



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL - AGUA**

**TRATAMIENTO BACTERIANO EMPLEANDO MÉTODOS VERDES
USANDO NANOPARTÍCULAS DE FERRITAS DE ZINC DOPADO CON
PUNTOS CUÁNTICOS Y ÓXIDO DE ZINC DOPADO CON PLATA**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA**

PRESENTA:

ALAN JAVIER SANTIAGO CUEVAS

TUTOR PRINCIPAL:

DR. THANGARASU PANDIYAN, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DR. ARENAS ALATORRE JESÚS ÁNGEL, INSTITUTO DE FÍSICA, UNAM

M. C. GARCÍA GÓMEZ ROLANDO SALVADOR, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, NOVIEMBRE 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Arenas Alatorre Jesús Ángel
Secretario: Dr. Luna Pabello Víctor Manuel
Vocal 1: Dr. César Valdez Enrique
Vocal 2: M. C. García Gómez Rolando Salvador
Vocal 3. Dr. Thangarasu Pandiyan

Lugar o lugares donde se realizó la tesis: Laboratorio 215 y 221 del edificio F, Facultad de Química, Ciudad Universitaria, UNAM, CDMX.

TUTOR DE TESIS:

DR. PANDIYAN THANGARASU

FIRMA

Agradecimientos

A mi familia, que siempre estuvo para apoyarme durante mi trayecto académico a pesar de la distancia.

Al Doctor Pandiyan Thangarasu por apoyarme y brindarme sus conocimientos en la investigación. Por su orientación, experiencia y apoyo.

Al comité tutorial, al Dr. Jesús Arenas, por su enseñanza en microscopia y al M. en C. Rolando García y al Dr. Pandiyan, por su contribución contante y observaciones a la mejora del presente trabajo de investigación.

A mis amigos, Palacios, por ser más que un amigo, por su apoyo y compañerismo. A Dani, a Sol, a Scarlet y a Jessica por su apoyo y amistad dentro del laboratorio.

A la UNAM, por abrirme las puertas, por su formación de calidad, por los profesores que conocí y sus instalaciones.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por otorgarme la beca para realizar mis estudios de maestría.

**Nuestras convicciones más arraigadas, más indubitables, son las más sospechosas.
Ellas constituyen nuestro límite, nuestros confines, nuestra prisión**

- José Ortega y Gasset

-

Nunca moriría por mis creencias porque podría estar equivocado

- Bertrand Russell

Ndi'í kui un chikaun, ndi'í kui un chañungun ka'an yo'ó sa'an ñuugun

- Anónimo

Contenido

Resumen	1
Abstract.....	2
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1. Introducción.....	3
CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Contaminación del agua.....	5
2.2. Contaminación por antibióticos	6
2.3. Bacterias patógenas.....	7
2.3.1. Características de las bacterias.....	7
2.3.2. Las bacterias resistentes a los antibióticos	9
2.3.3. Bacterias de interés.....	12
2.4. Tratamiento de aguas residuales	13
2.4.1. ARB en el tratamiento de aguas residuales.....	15
2.4.2. Tratamientos biológicos	15
2.4.3. Tratamientos terciarios.....	17
2.5. Nanociencias y nanotecnología	19
2.6. Nanotecnología verde	21
2.6.1. Uso de plantas en la síntesis de nanopartículas metálicas.....	22
2.7. Nanotecnología en el tratamiento de aguas residuales	26
2.8. Selección de nanomateriales con propiedades antibacterianas.....	27
2.8.1. Nanopartículas de plata.....	30
2.8.2. Nanopartículas de zinc	32
2.8.3. Ferrita de hierro o magnetita	34
2.8.4. Ferrita de cobalto.....	36
2.8.5. Ferrita de níquel	37
2.8.6. Ferrita de zinc.....	39
2.8.7. Puntos cuánticos de carbono	41
2.9. Especies reactivas de oxígeno.....	44
CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN	46
3.1. Objetivo general.....	49

3.1.1. Objetivos específicos.....	49
3.2. Hipótesis	49
CAPÍTULO 4. METODOLOGÍA.....	50
4.1. Preparación de extractos de hoja de <i>Ocimum tenuiflorum</i> y cáscara de naranja de <i>Citrus sinensis</i>	50
4.2. Componentes fitoquímicos de las hojas de <i>O. Tenuiflorum</i> y cáscara de naranja.....	51
4.3. Preparación de nanopartículas de plata.....	52
4.4. Preparación de nanopartículas de óxido de zinc	52
4.5. Preparación de nanopartículas de Ag/ZnO NPs.....	53
4.6. Preparación de ferritas	53
4.7. Preparación de puntos cuánticos de carbono (CQDs).....	54
4.8. Preparación de puntos cuánticos de carbono con ferritas (C@ MFe _x O ₄ NPs) u óxido de zinc (C@ZnO).....	55
4.9. Caracterización	55
4.10. Ensayos microbiológicos	56
4.10.1. Zonas de inhibición por antibiogramas	56
4.10.2. Concentración mínima inhibitoria.....	56
4.11. Análisis económico.....	58
CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59
5.1. Observaciones visibles.....	59
5.2. Propiedades estructurales, difracción de rayos X (XRD)	60
5.2.1. Óxidos de zinc.....	60
5.2.2. Ferrita de Zinc (ZnFe ₂ O ₄)	61
5.2.3. Magnetita (Fe ₃ O ₄)	62
5.2.4. Ferrita de cobalto (CoFe ₂ O ₄).....	63
5.2.5. Ferrita de níquel (NiFe ₂ O ₄)	64
5.2.6. Puntos cuánticos de carbono (CQDs).....	65
5.3. Microscopia electrónica de barrido (SEM).....	67
5.3.1. Nanopartículas de plata (Ag NPs).....	67
5.3.2. Nanopartículas de óxido de zinc (ZnO NPs).....	68
5.3.3. Nanopartículas de ferrita de zinc (ZnFe ₂ O ₄).....	69
5.3.4. Nanopartículas de magnetita (Fe ₃ O ₄).....	70
5.3.5. Nanopartículas de ferrita de cobalto (CoFe ₂ O ₄).....	71

5.3.6. Nanopartículas de ferrita de níquel (NiFe_2O_4)	72
5.3.7. Puntos cuánticos de carbono (CQDs).....	73
5.4. Propiedades ópticas.....	75
5.4.1. Extractos vegetales.....	75
5.4.2. Nanopartículas de plata	76
5.4.3. Puntos cuánticos de carbono	77
5.4.4. Cálculo de la banda prohibida de los óxidos metálicos	78
5.4.5. Banda prohibida de CQDs.....	79
5.4.6. Banda prohibida de ZnO, Ag/ZnO y C@ZnO	79
5.4.7. Banda prohibida de MFe_xO_4	80
5.4.8. Banda prohibida de C@ MFe_xO_4	81
5.5. Ensayos antibacterianos.....	83
5.5.1. Zonas de inhibición	83
5.5.2. Concentración mínima inhibitoria.....	87
5.6. Análisis de criterio económico.....	96
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	103
6.1. Conclusiones	103
6.2. Perspectivas	103
Referencias	105

Resumen

La resistencia de las bacterias provocada por los antibióticos es uno de los graves problemas actuales en el ambiente, especialmente en los sistemas acuáticos que alteran el equilibrio ecológico. Los residuos de antibióticos son generados por la industria farmacéutica, los hospitales y la medicación habitual de la gente que se están filtrando al sistema de agua generando así, resistencia bacteriana. Por esta razón, se están considerando técnicas avanzadas de oxidación como cloración, ozonización y oxidación catalítica bajo luz ultravioleta para la desinfección de patógenos en aguas residuales. Sin embargo, los métodos anteriores también pueden generar residuos tóxicos mediante procesos de mutación. Por lo tanto, se requiere el desarrollo de una técnica para desinfectar o degradar los componentes antibacterianos. Los materiales catalíticos a nanoescala (1 a 100 nm) exhiben propiedades fisicoquímicas únicas en comparación con los materiales a granel; en particular, los óxidos metálicos que, poseen propiedades fotocatalíticas y antibacterianas. Por ejemplo, se ha demostrado que el óxido de zinc y las ferritas magnéticas dopadas con otros metales o no metales mejoran las propiedades fotocatalíticas y antibacterianas. Sin embargo, ha existido una preocupación por la formación de productos que se lixivian al medio ambiente durante la síntesis de nanopartículas. Por lo tanto, los métodos de química verde son de creciente interés en el campo para evitar esos problemas; principalmente, el uso de extractos de plantas para la preparación de nanopartículas. En este proceso no se producen productos nocivos para el medio ambiente y además reduce los costes energéticos y económicos. En el presente trabajo, las NPs de ZnO/Ag se prepararon utilizando tecnologías limpias y respetuosas con el medio ambiente. Las NPs de Ag se sintetizaron mediante extracto de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) durante la deposición en NPs de ZnO. Además, también se prepararon puntos de carbono económicamente viables dopados con ferritas magnéticas para ver su naturaleza antibacteriana y luego se compararon con ZnO. Todos los nanomateriales fueron caracterizados por XRD, SEM-EDS, UV-Vis y espectroscopía de fluorescencia. Para los estudios antibacterianos, las especies bacterianas utilizadas fueron las siguientes: Gram (+) (*S. aureus* y *B. cereus*) y Gram (-) (*E. coli* y *S. typhi*). Los resultados muestran que ZnO y ZnO dopado exhiben la mayor inhibición del crecimiento celular seguido de ferritas magnéticas dopadas y las ferritas magnéticas mostraban un valor más bajo.

Abstract

The resistance of bacteria caused by antibiotics is one of the serious current problems in the environment, especially in aquatic systems that alter the ecological balance. Antibiotic residues are generated by the pharmaceutical industry, hospitals and people's habitual medication that are leaking into the water system, thus generating bacterial resistance. For this reason, advanced oxidation techniques such as chlorination, ozonation and catalytic oxidation under ultraviolet light are being considered for the disinfection of pathogens in wastewater. However, the above methods can also generate toxic waste through mutation processes. Therefore, the development of a technique to disinfect or degrade the antibacterial components is required. Catalytic materials at the nanoscale (1 to 100 nm) exhibit unique physicochemical properties compared to bulk materials; in particular, metal oxides that possess photocatalytic and antibacterial properties. For example, zinc oxide and magnetic ferrites doped with other metals or non-metals have been shown to enhance photocatalytic and antibacterial properties. However, there has been a concern about the formation of products that are leached into the environment during nanoparticle synthesis. Therefore, green chemistry methods are of increasing interest in the field to avoid these problems; mainly, the use of plant extracts for the preparation of nanoparticles. This process does not produce products that are harmful to the environment and also reduces energy and economic costs. In the present work, the ZnO / Ag NPs were prepared using clean and environmentally friendly technologies. Ag NPs were synthesized by orange peel extract (*Citrus sinensis*) during deposition in ZnO NPs. Furthermore, economically viable carbon spots doped with magnetic ferrites were also prepared for their antibacterial nature and then compared to ZnO. All nanomaterials were characterized by XRD, SEM-EDS, UV-Vis, and fluorescence spectroscopy. For antibacterial studies, the bacterial species used were the following: Gram (+) (*S. aureus* and *B. cereus*) and Gram (-) (*E. coli* and *S. typhi*). The results show that doped ZnO and ZnO exhibited the highest inhibition of cell growth followed by doped magnetic ferrites and magnetic ferrites showed the lowest value.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

1.1. Introducción

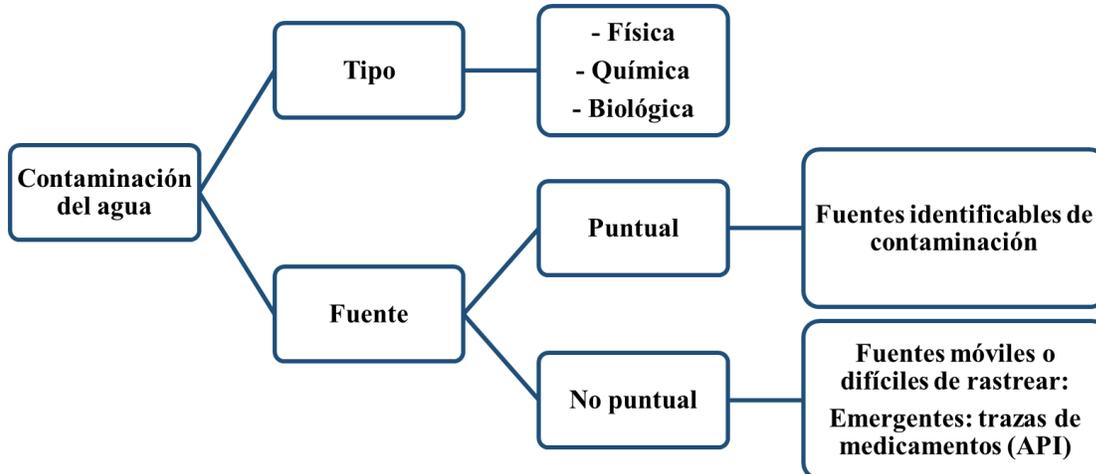
La presencia de agentes antibacterianos en el ambiente provoca resistencia bacteriana, principalmente las fuentes de abastecimiento de sistemas de agua potable, esto implica un riesgo para la salud pública y ambiental. Los contaminantes emergentes como los fármacos, son difíciles de eliminar debido a su baja concentración y los tratamientos de aguas residuales convencionales no son adecuados para eliminar por completo los fármacos, por lo tanto, sus efluentes se descargan directamente en cuerpos de agua por lo que afectan la vida acuática, provocando un desequilibrio ecológico [1]. Entre estos fármacos, los antibióticos se usan para inhibir bacterias, que liberados en el ambiente alteran consorcios microbianos en los ecosistemas, afectando la salud ambiental [1, 2]. Por lo tanto, es indispensable un adecuado tren de tratamiento de aguas residuales provenientes de diversas actividades. Los tratamientos terciarios de desinfección para aguas residuales municipales son procesos especializados y requiere nuevas tecnologías económicamente viables, entre estas tecnologías se encuentra la nanotecnología. Los nanomateriales se aplican en diversas áreas incluyendo la purificación de agua y tratamiento de aguas residuales [3]. Diversas nanopartículas (NPs) metálicas y de óxidos metálicos poseen propiedades antibacteriales, capacidad de degradación de estos productos (antibacterianos) y se pueden considerar como una alternativa a tratamientos de aguas residuales tradicionales [3, 4]. Nanopartículas de plata (Ag NPs), nanopartículas de óxido de zinc (ZnO NPs), nanopartículas de dióxido de titanio (TiO₂ NPs), nanopartículas de óxido de cerio (Ce₂O₄NPs), exhiben propiedades antimicrobianas sin oxidación fuerte y tienen una menor tendencia a formar subproductos de desinfección tóxica (DBPs, por sus siglas en inglés) a diferencia de productos utilizados en tratamientos convencionales como derivados de cloro y ozono [5]. Por otro lado, las membranas cerámicas, membranas poliméricas, nanotubos de carbono, óxidos metálicos, membranas de nanocables y nanopartículas magnéticas permiten separar contaminantes del agua para tener una mejor calidad de la misma [6]. Las NPs como adsorbentes o membranas de nanofiltración permiten esta separación de contaminantes, mientras que los catalizadores permiten la degradación de los contaminantes presentes [7]. Muchas de las NPs metálicas se elaboran con reactivos químicos como borohidruro de sodio (NaBH₄) o hidruro de litio y de aluminio (LiAlH₄), que funcionan como agentes reductores. Estos compuestos, al combinarse en reacciones, generan

desechos químicos que, al ser liberados en el ambiente, pueden causar daños ambientales y biológicos, principalmente por su contaminación. Se han implementado métodos alternativos de síntesis, tal es el caso de la síntesis verde. La síntesis verde consiste en la utilización de recursos biológicos como son las plantas, las algas, los hongos, las bacterias y los virus para producir nanomateriales para la obtención de NPs, disminuyendo la toxicidad en desechos, además de un costo bajo, una eficiencia energética alta y una baja huella de carbono [8]. Con base en lo anterior, se propuso el desarrollo de un método terciario alternativo de desinfección bacteriana en el tratamiento de aguas residuales, mediante la aplicación de NPs de plata soportadas en óxido de zinc (Ag/ZnO NP) y ferritas (MFe_xO_4 , donde M=Fe, Co, Ni y Zn). La fabricación de las NPs propuestas consiste en métodos de “síntesis verde”. Los agentes reductores son extractos vegetales, en este caso, extracto de hoja de albahaca morada (*Ocimum tenuiflorum*) y extracto de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*). Las pruebas antibacterianas se harán por medio de ensayos cualitativos microbianos y el cálculo de la concentración mínima inhibitoria.

CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO

2.1. Contaminación del agua

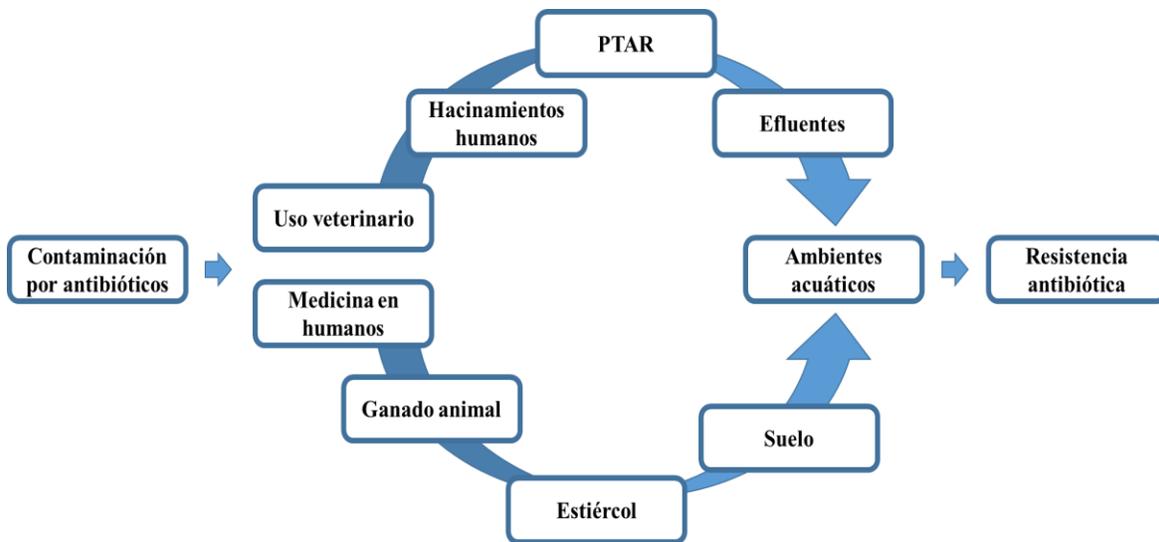
El agua es un recurso indispensable para la vida, esencial para los seres vivos y para los sistemas donde estos habitan. Esta comprende un 70 % de la superficie terrestre de la cual, un 97 % pertenece a los océanos como agua salada, el restante es agua dulce, ésta se encuentra en su mayoría en forma de hielo y una pequeña parte es utilizada para fines humanos. Por lo tanto, un pequeño porcentaje del agua, se encuentra en procesos terrestres, atmosféricos y biológicos [9]. El agua dulce aprovechada por los seres humanos, comprende menos del 30%, en otras palabras, del agua presente en el mundo, solamente 0.77% es accesible al ser humano [10]. Al ser cada vez más grande la población mundial, la demanda de agua es, del mismo modo, cada vez mayor. Sin embargo, las actividades humanas han generado problemas como sobreexplotación de este recurso y sobre todo su contaminación. La contaminación del agua es la alteración de un cuerpo de agua por la presencia de componentes químicos, físicos o biológicos, los cuales causan un deterioro con respecto a un uso benéfico [11]. Las fuentes de contaminación pueden ser de dos tipos: puntuales y no puntuales. Las fuentes puntuales son las fuentes identificables, mientras que las fuentes no puntuales, son fuentes móviles o que se distribuyen en un área geográfica amplia [11]. Los contaminantes de tipo emergente, no tienen una regulación o monitoreo continuo y, por lo tanto, entran en contacto en el ambiente generando problemas de salud y afectando vida silvestre. Contaminantes como los medicamentos llegan a los cuerpos de agua contenidos en los residuos líquidos de tipo municipal, agrícola o industrial. Los medicamentos tienen ingredientes farmacéuticos activos (API, por sus siglas en inglés) que, al liberarse al ambiente, principalmente a cuerpos acuáticos, se clasifican como contaminantes emergentes ubicuos [12]. Los subproductos que se forman a partir de este tipo de contaminantes emergentes son de preocupación, principalmente si son biológicamente activos o resistentes a la biodegradación [13]. Las rutas por las cuales se liberan API son por: i) excreción de metabolitos activos y API no metabolizados, ii) API típicos que se liberan al bañarse o sudar y iii) la eliminación imprudente de restos de medicamentos no deseados. Su liberación en ambientes acuáticos, principalmente por alcantarillado, permite encontrarlos como contaminantes traza [14].



Esquema 2.1. Contaminación del agua por fuentes puntual y no puntual.

2.2. Contaminación por antibióticos

Los antibióticos se encuentran en la lista de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico [12]. Se puede definir a los antibióticos como compuestos naturales, semisintéticos o sintéticos con actividad antimicrobiana que se administran de manera oral, tópica o parenteral a humanos y animales. [15]. El uso excesivo de antibióticos, así como un promotor del crecimiento en medicina veterinaria da como resultado la introducción de estos compuestos al ambiente. La movilidad y persistencia de los antibióticos en el ambiente les permite, entre otras cosas, llegar a aguas superficiales y subterráneas y, potencialmente a aguas potables, detectándose en concentraciones variables de ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$ [16]. La contaminación por antibióticos facilita el desarrollo y la propagación de la resistencia a los antibióticos entre las bacterias, además, la interacción de metales y otros biocidas con los antibióticos en efluentes industriales incrementa la resistencia bacteriana. La eliminación de antibióticos a través de diferentes procesos de tratamiento de aguas residuales no es del todo eficiente, lo que conlleva a la aparición, transporte y diseminación de la resistencia a los antibióticos [16, 17]. En general, los antibióticos conducen a una presión selectiva sobre las bacterias del agua e inducen la formación de las bacterias resistentes a los antibióticos, reduciendo su potencial terapéutico contra patógenos humanos y animales [18].



Esquema 2.2. Contaminación del agua por contaminantes emergentes: antibióticos.

2.3. Bacterias patógenas

2.3.1. Características de las bacterias

De la gran variedad de microorganismos, las bacterias llaman la atención debido a su capacidad de formar colonias, principalmente en forma de biopelículas, y éstas se asocian a riesgos por infecciones. Se puede clasificar a las bacterias por su morfología, habiendo tres grupos principales: esferas (cocos), bastones (bacilos) y espirales (espirilla) [19]. Otra manera de clasificar a las bacterias es por la técnica de tinción de Gram, la cual permite clasificar varias características de las bacterias por la composición de sus paredes celulares. Estos grupos son Gram positiva (+) y Gram negativa (-) (figura 2.1). Las bacterias Gram (+) poseen una pared celular gruesa (20 a 80 nm) como capa externa de la célula, mientras que, las bacterias Gram (-) poseen una pared relativamente delgada (<10 nm), con una membrana externa adicional con varios poros y apéndices. Estas diferencias en la envoltura celular confieren diferentes propiedades a la célula, en particular respuestas a tensiones externas, incluido el calor, la radiación UV y los antibióticos [20].

Tabla 2. Clasificaciones de bacterias.

Clasificación de bacterias	
Por morfología	<ul style="list-style-type: none">• Cocos: en forma de esferas.• Bacilos: en forma de bastones.• Espirilla: en forma de espirales.
Por tipo de pared celular	<ul style="list-style-type: none">• Gram positiva (Gram +): pared celular gruesa (20 a 80 nm).• Gram negativa (Gram -): pared celular delgada con una membrana externa adicional (<10 nm).

Las bacterias patógenas, son capaces de causar daño a sus huéspedes, y han permitido una adaptación por parte del huésped, sin embargo, este equilibrio, actualmente se ve obstaculizado. A la mayoría de los patógenos bacterianos actuales, se le considera emergente, en otras palabras, tiene resistencia a la presencia de múltiples fármacos, entre ellos los antibióticos. Se reconocen bacterias presentes en el ambiente que son causantes de infecciones nosocomiales, principalmente. Algunos de estos patógenos son: Gram (-) como *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp.*, y Gram (+) como *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Streptococcus pneumonia* [21, 22].

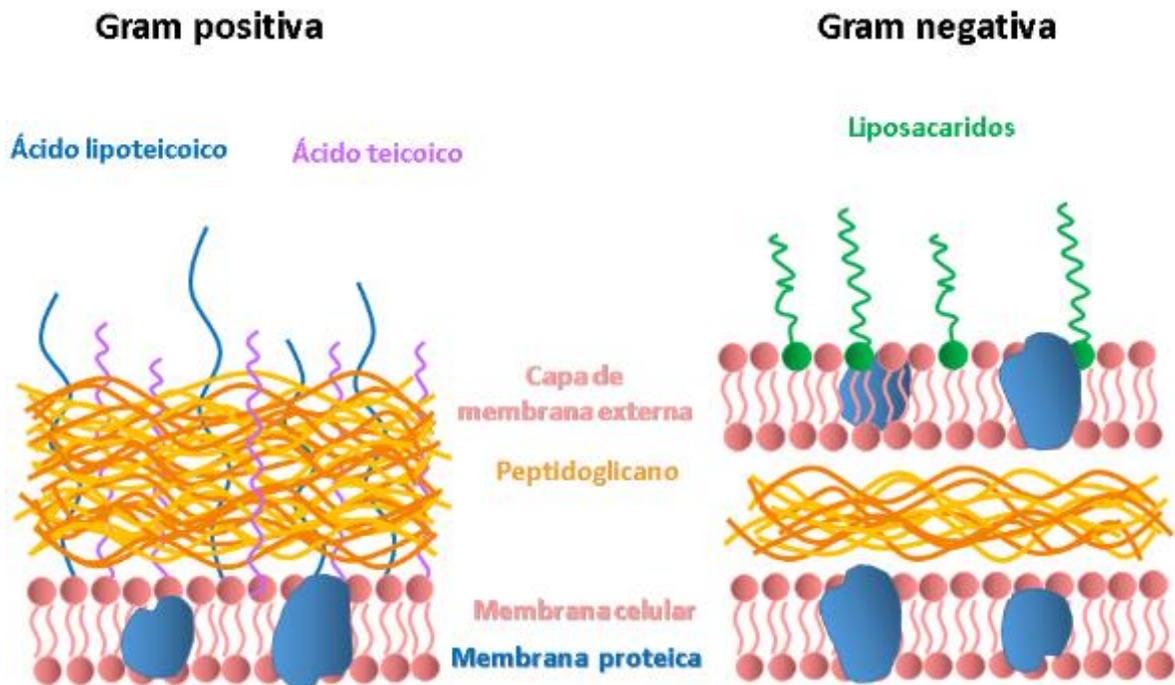


Figura 2.1. Diferencias entre paredes celulares de bacterias Gram positivas y Gram negativas [19]

2.3.2. Las bacterias resistentes a los antibióticos

Las bacterias resistentes a los antibióticos (ARB) generan principalmente dos tipos de resistencia: resistencia intrínseca y resistencia adquirida. La resistencia intrínseca es un rasgo que se da de forma natural en los organismos, mientras que la resistencia adquirida se da por la evolución de bacterias sensibles a bacterias resistentes [23]. En presencia de antibióticos, las bacterias sufren mutaciones espontáneas en su ADN, específicamente, en regiones críticas de los genes que codifican las proteínas o enzimas diana del fármaco que dan lugar al desarrollo de resistencia a los fármacos [24]. Los niveles no tóxicos de antibióticos dentro de la célula, así como la modificación o degradación de los antibióticos son también, mecanismos por los cuales las bacterias generan resistencia. Estos mecanismos de resistencia pueden surgir a través de mutaciones de genes cromosómicos y la adquisición de genes resistentes a los antibióticos (ARG) de otras cepas de la misma especie o diferentes, en un proceso conocido como transferencia horizontal de genes (HGT, por sus siglas en inglés) [25]. La HGT ocurre por tres mecanismos diferentes entre ARB y bacterias autóctonas de ambientes acuáticos: i) la conjugación se da cuando hay un contacto entre bacterias, ii) la transformación se da cuando se liberan genes en el ambiente y otras bacterias los toman (esto

se da con mayor frecuencia) y iii) la transducción se da cuando los virus llevan material genético de ARB a bacterias no resistentes (figura 2.2) [26]. Incluso, las especies microbianas no patógenas desarrollan resistencia a antibióticos debido a la HGT y sirven como reservorio ecológico para bacterias patógenas. Esta adquisición de ARG por captación de ADN desnudo y elementos genéticos móviles permiten incluso, transferir múltiples ARG entre bacterias, como *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina [27]. Además, la supervivencia microbiana a los tratamientos de antibióticos puede persistir aún si no hubo mutaciones genéticas, en un proceso llamado tolerancia colectiva los antibióticos [28].

La aparición de ARB en distintos ambientes, principalmente los cuerpos acuáticos, implican un riesgo para la salud pública y ambiental. Los contaminantes emergentes como los fármacos y productos de limpieza personal, son difíciles de eliminar. El número de ARB ha aumentado en los últimos años, mientras que la generación de antibióticos se ha estancado, especialmente para las infecciones dadas por bacterias Gram negativa [29]. La OMS especificó que los ARB son un riesgo para la medicina moderna, ya que, bacterias comunes desarrollan resistencia que causa una gran gama de enfermedades en humanos y animales, además, las ARB son posiblemente el mayor riesgo para la salud humana, principalmente por la globalización y migración que propagaría enfermedades derivadas de las ARB [30, 31]. La OMS enlistó 12 grupos de bacterias, clasificándolas en tres categorías (prioridad crítica, alta y media), de las cuales, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* se encuentran en prioridad alta, causando infecciones en hospitales y comunidades [29, 32].

La colonización de ARB en el cuerpo humano se debe a dos principales medios, la ingestión y la acumulación en heridas o mucosas. La ingesta de agua contaminada por ARB, antibióticos o ARG que pudieran estar presentes en el agua potable, entran al cuerpo y aumentan el crecimiento bacteriano del estómago, pero no se ha demostrado un aumento en la tasa de infecciones. La exposición por transmisión a través de la piel desgastada, las heridas o mucosas en terapias con antibióticos o dispositivos, así como los baños con agua contaminada son de mayor riesgo [33, 34]. En el caso de los ambientes acuáticos, reciben ARB, ARG o antibióticos por medio de medicamentos de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales, actividades de acuicultura, por uso de medicina veterinaria e instalaciones de producción de antibióticos [35]

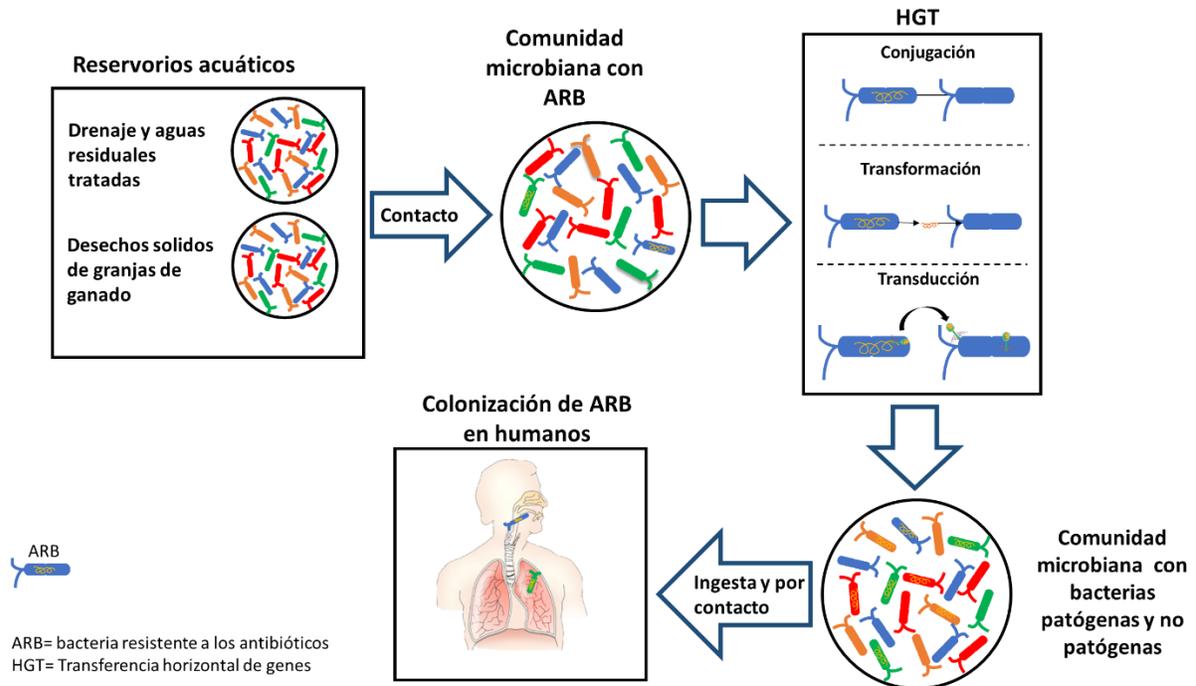


Figura 2.2. Posibles vías de transferencia de ARG a los patógenos humanos. Las ARG se descargan en ambientes acuáticos a través del drenaje, las aguas residuales tratadas y los desechos sólidos de las granjas de ganado. La HGT puede ocurrir entre ARB y bacterias autóctonas por tres mecanismos principales: conjugación, transformación y transducción [26].

Los sistemas regulatorios sobre contaminantes farmacéuticos no tienen en cuenta la resistencia bacteriana, sin embargo, se han usado algunas mediciones para identificar concentraciones ambientales cercanas o inferiores a la concentración mínima inhibitoria (MIC, por sus siglas en inglés) de ciertos antibióticos [36]. Las preocupaciones sobre los riesgos ambientales que traigan consigo la resistencia bacteriana y demás productos farmacéuticos ha dado lugar a que se realicen evaluaciones de riesgos ambientales, que incluyen pruebas ecotoxicológicas con diferentes organismos como invertebrados, plantas y peces, así como la determinación de efectos sobre el recambio de carbono y nitrógeno en los sedimentos [35]. Una manera de disminuir la concentración de los antibióticos es mediante el control y monitoreo directo de una de las fuentes principales que son las industrias farmacéuticas. Sin embargo, el problema no solo se encuentra aquí, ya que su uso extendido por toda la población, hace que la regulación de estos contaminantes sea difícil y costoso. Las obras de tratamiento de agua tienen el propósito de reducir los contaminantes del agua,

en este caso, reducir los componentes químicos de los antibióticos, así como los patógenos presentes.

2.3.3. Bacterias de interés

***Staphylococcus aureus*:** pertenece al género estafilococo. *S. aureus* tiene una forma cocoide esférica, presentándose como cadenas cortas o agrupaciones en forma de uva. *S. aureus* es una bacteria de tipo Gram (+) y aerobia facultativa. Presente en el ambiente, se puede encontrar en el aire, el polvo, las aguas residuales, el agua, las superficies ambientales, los seres humanos y los animales. Esta bacteria llama la atención debido a su continua resistencia a distintos fármacos. Su desarrollo de resistencia a los antibióticos se debe principalmente a la HGT, esto se debe a la modificación e inactivación enzimática del fármaco o a la modificación enzimática de la unión al fármaco. Las bacterias *S. aureus* son asociadas comúnmente a síntomas como náuseas, vómito, dolor abdominal, diarrea, escalofríos, dolor general. En casos graves, se presentan cefalea, postración y en casos raros, la muerte, sobre todo en personas susceptibles a la deshidratación, como niños y ancianos[37, 38].

***Bacillus cereus*:** Esta bacteria comprende siete especies estrechamente relacionadas. *B. cereus* es una bacteria de tipo Gram (+) de gran tamaño, con forma de bastón, formadora de endosporas. Las bacterias *B. cereus* se encuentran en materia orgánica en descomposición, aguas marinas y dulces, así como en microbiota intestinal de varios animales, lo que lleva a contaminar suelos y con ello, los alimentos, lo que lleva a una colonización transitoria del intestino humano. Las bacterias *B. cereus* son asociadas con diversas enfermedades como infecciones bucales, trastornos gastrointestinales, infecciones dérmicas, absceso hepático, neumonía, entre otras; incluso pueden contribuir a la virulencia debido a factores citotóxicos [39].

***Escherichia coli*:** Es una bacteria Gram (-) con forma de bastón, miembro de la familia de las Enterobacteriaceae, anaerobia facultativa, una gran familia que también incluye *Salmonella*. Es un patógeno común, indicador fecal, sugerido por la OMS. Se le asocia a diversas enfermedades, generalmente agrupadas por tres familias: (1) cepas asociadas a enfermedades intestinales, como la diarrea, (2) cepas comensales, residentes en el tracto gastrointestinal, este tipo de cepas son inofensivas para la salud y (3) cepas causantes de enfermedades fuera del tracto intestinal. La mayoría de las bacterias de *E. coli* son

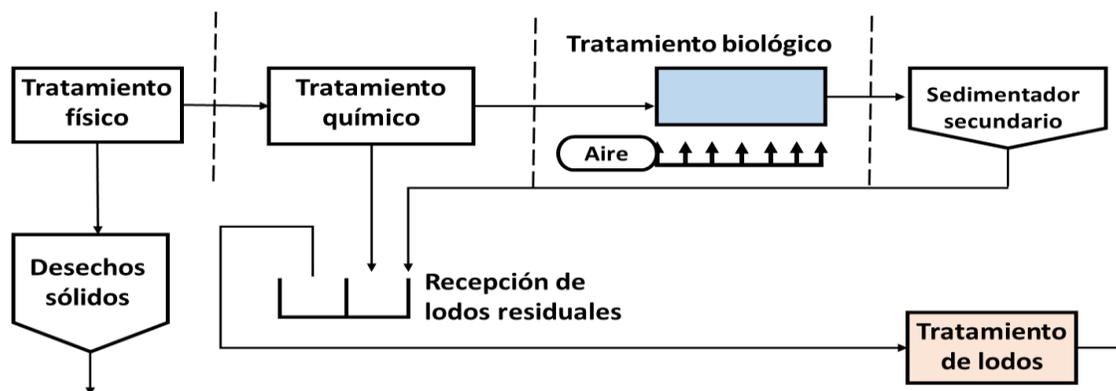
inofensivas, pero algunas causan enfermedades como diarrea, vómito, fiebre alta, calambre de estómago e infecciones urinarias [40, 41].

***Salmonella typhi*:** La *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. Typhi*) pertenece a las bacterias Gram (-), es anaerobia facultativa y tiene forma de bastón. *S. Typhi*, es una bacteria restringida que afecta a humanos y primates, estrechamente relacionados a los humanos. *S. Typhi* es un patógeno común que causa enfermedades, que se presentan de 1 a 3 días después de la infección y pueden durar de 7 a 14 días. El resfriado común, el vómito y dolores abdominales son síntomas asociados a la *Salmonella*. La tifoidea es una enfermedad causada por esta bacteria, provoca daño a largo plazo, se aloja en la vesícula biliar, y así, a lo largo de varias décadas alojada en el organismo, se excreta y se aloja en nuevos organismos. Esta bacteria, además de ser resistente a los antibióticos, es resistente a múltiples fármacos y esto conduce a enfermedades transmitidas principalmente por alimentos con tratamientos cada vez menos efectivos [41-43].

2.4. Tratamiento de aguas residuales

La urgente necesidad del acceso al agua, así como su saneamiento e higiene depende en parte de la calidad e infraestructura con que se cuente para tratarla. Paralelamente, el agua residual que se genera ha ido en aumento, por lo tanto, se necesitan más tecnologías de tratamiento para proteger la calidad de los recursos hídricos [44]. Así pues, las aguas residuales deben llevar una gestión de tratamiento adecuada y de esta manera, regresarla a cuerpos de agua o implementarla para uso recreativo. Las plantas de tratamiento de agua tienen un papel importante en la protección del ambiente y la salud pública pues eliminan agentes contaminantes químicos y biológicos. Sin embargo, la gestión de los residuos, principalmente municipales, en muchos países supone peligros para la salud humana y el ambiente, debido a su almacenamiento, tratamiento y eliminación [45]. Se sabe que el manejo inadecuado de las plantas tratadoras de agua puede traer consigo problemas de salud pública, así como problemas ecológicos severos. Esto desencadena en diversas enfermedades transmitidas por el agua que afectan tanto la salud humana, vida acuática y vida silvestre [46]. Las estrategias de saneamiento tradicionales consisten en la implementación de sistemas de recolección de alcantarillado y plantas de tratamiento de aguas residuales centralizadas convencionales. Este tratamiento convencional de aguas residuales comprende la combinación de etapas y

procesos con operaciones físicas, químicas y biológicas que permiten eliminar sólidos, materia orgánica y nutrientes de las aguas residuales [47]. La configuración convencional de tratamiento consiste en: un pretratamiento, seguido de tratamiento primario y tratamiento biológico, normalmente de lodos activados y si es requerido, un tratamiento terciario o avanzado (Esquema 2.3).



Esquema 2.3. Tratamiento general de aguas residuales.

Los tratamientos de agua se centran en la eliminación principal de carbono, fósforo y nitrógeno, con baja importancia para contaminantes de tipo microbiológico, por lo tanto, las PTAR no están diseñadas para eliminar ARG de las aguas residuales, donde además de ARB, se encuentran microbiotas humanas y microcosmos bacterianos, que facilitan la HGT. Las aguas tratadas usadas como agua potable o de uso recreativo, contienen bacterias que son un riesgo, por ejemplo, *Escherichia coli* y enterococos, que son indicadores fecales, o estafilococos que son colonizadores de la piel y membranas mucosas de humanos y animales [48]. Además de las técnicas de tratamiento de tipo convencional fisicoquímicas y biológico para la reducción de contaminantes orgánicos, se utilizan técnicas avanzadas con el fin de remover contaminantes de los tipos farmacéuticos y microbiológicos. Se ha informado que los procesos convencionales (coagulación/floculación, sedimentación y filtración en lechos de arena) tienen mayor impacto en la reducción de ARG que los tratamientos avanzados (como cloración u ozonización) [49]. Sin embargo, para alcanzar la meta de purificación de aguas residuales se pueden utilizar la cloración, sistemas de membranas, procesos de oxidación avanzada (ozonización, irradiación UV, foto Fenton y fotocatalisis) [48, 50]. A pesar de que el proceso de saneamiento ha servido bien en el tratamiento y descarga de agua, y para la protección de la salud pública y calidad del agua, sus gastos energéticos y de

recursos han sido una preocupación, además, la formación de subproductos tóxicos en la desinfección de efluentes se agregan a esta problemática [51].

2.4.1. ARB en el tratamiento de aguas residuales

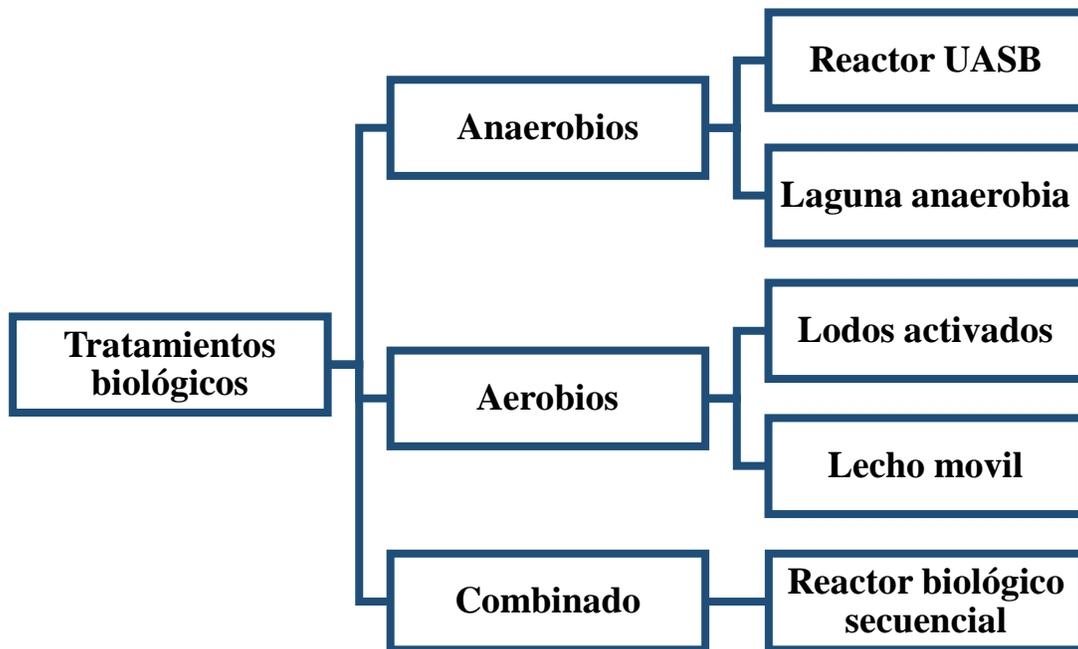
Las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) reciben aguas residuales de diferentes fuentes, así como bacterias de diferentes entornos, el ambiente generado permite la interacción e intercambio de genes entre bacterias. Por lo tanto, las PTAR pueden actuar como depósitos y proveedores ambientales de resistencia a los antibióticos, de igual forma, son posibles puntos de propagación y depósito de genes de resistencia (ARG) a los antibióticos en especies bacterianas en el proceso de HGT. Las PTAR permiten una comunicación entre el medio ambiente y la sociedad humana, ya que las aguas provenientes de los hogares, de los hospitales y diferentes industrias (principalmente farmacéuticas, ganaderas y agrícolas) permiten ARB y ARG selectiva antes de que los efluentes sean liberados en el ambiente [49]. La interacción entre bacterias nómadas de las PTAR y patógenos humanos en aguas residuales, permite HGT donde los ARG dan resistencia a bacterias a distintos antibióticos. Los antibióticos y los ARG también pueden ser absorbidos por las plantas en el agroecosistema a través de la reutilización de aguas residuales, causando posibles exposiciones a humanos y animales [52].

Se ha demostrado que hay acumulación y selectividad de ARG en cuerpos de agua como sedimentos de ríos, lagunas, así como en sedimentos de PTAR debido a la presencia de medicamentos antimicrobianos. La presencia de antibióticos y el contacto con otros contaminantes químicos en las aguas residuales, propician el mejoramiento de ARG, además de mejorar la reproducción de los vectores de resistencia dentro de los ARB y posiblemente estimular el intercambio horizontal de genes de resistencia [53]. Aunque se pueden eliminar en gran medida los ARG que permiten ARB, la falta de métodos adecuados para la evaluación de HGT dificulta la comprensión de transferencia de ARG entre bacterias, y por lo tanto mejorar los diseños de PTAR [54].

2.4.2. Tratamientos biológicos

Las plantas de tratamiento biológico de aguas residuales son sistemas con grandes variaciones en sus caudales y concentraciones de alimentación [55]. Su función se basa en reducir la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) en las aguas residuales. Se utilizan

microorganismos en las aguas residuales que se alimentan de la materia orgánica disuelta, ya sea en condiciones aerobias o anaerobias, la convierten en masa celular que se precipita en un tanque sedimentador o se retiene como lodo activado en superficies sólidas del sistema [56]. A diferencia de tratamientos físicos o químicos que demandan una gran cantidad de energía, son costosos y requieren pasos adicionales para regenerar los adsorbentes y / o descomponer los subproductos, los tratamientos biológicos de aguas residuales requieren un menor costo al igual que la energía necesaria para operar [57]. El tipo de microorganismos presentes en este tipo de tratamiento depende en gran medida del tipo de efluente entrante, debido a su contenido de DBO, demanda química de oxígeno (DQO), presencia tóxica, y demás parámetros, así como las condiciones operativas de la PTAR [58]. Muchas veces, debido a la calidad compleja del agua residual, se combinan sistemas biológicos aerobios y anaerobios para mejorar la calidad del efluente final. Esta combinación permite un mayor porcentaje de eliminación de ARB y ARG del efluente, ya que se ha reportado que, en condiciones anaerobias, el número de ARG que permite ARB es menor que en condiciones aerobias [59]. En general, la disminución de bacterias en PTAR biológicas, permite un rendimiento adecuado en la eliminación de ARB. Sin embargo, las tecnologías convencionales en el tratamiento biológico de aguas residuales para la eliminación de productos tóxicos como los antibióticos no son del todo eficiente y solo transfieren los compuestos químicos de una fase a otra en lugar de eliminarlos, por ejemplo, los filtros biológicos que filtran de manera eficiente elementos orgánicos con mejor costo que lo haría un método fisicoquímico, pero no elimina ARB y ARG [60, 61]. Por otro lado, las PTAR convencionales municipales están diseñadas para eliminar en gran medida, componentes orgánicos biodegradables y fácilmente removibles de las aguas residuales [62]. Sin mencionar que, en muchas ocasiones, los microorganismos encargados de consumir la materia orgánica necesitan, en un inicio, adaptarse a las condiciones de los contaminantes. Por lo tanto, se requieren tratamientos terciarios para la eliminación de contaminantes traza, así como ARG y ARB del efluente.

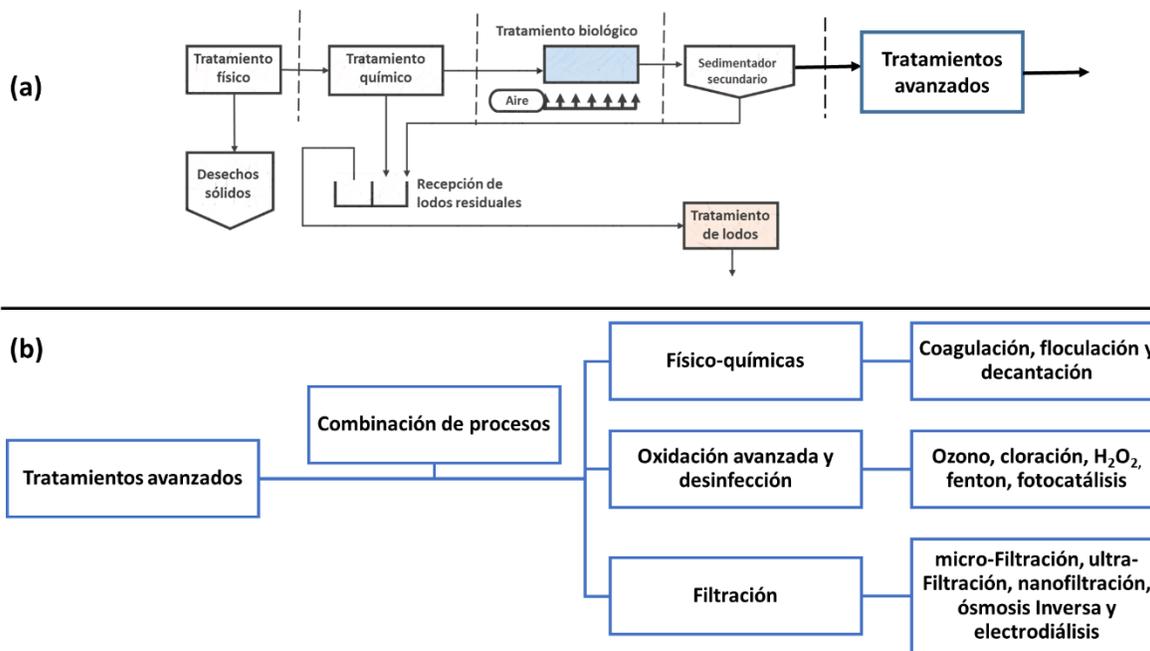


Esquema 2.4. Ejemplos de los tipos de tratamientos biológicos.

2.4.3. Tratamientos terciarios

Los tratamientos terciarios son tratamientos adicionales requeridos para eliminar sustancias suspendidas y disueltas que el tratamiento secundario no pudo eliminar. Consisten en tratamientos físicos, químicos o biológicos, entre ellos se encuentran los procesos de adsorción física y oxidación química se aplican comúnmente debido a su alta eficiencia de eliminación y operación simple [56]. Sin embargo, estos métodos son costosos, además de ser necesarias evaluaciones coherentes para demostrar la efectividad de reducción de contaminantes microbiológicos. Por ejemplo, la ozonización como tratamiento avanzado, se encarga de eliminar micro contaminantes orgánicos, también se considera adecuado para desactivar bacterias mediante la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés); sin embargo, a pesar de eliminar hasta en un 99% gran cantidad de ARG y ARB, su eficiencia para eliminar contaminantes microbiológicos se reduce a 80%, siendo que se requiere de un 99% de remoción para evitar un nuevo crecimiento posterior de ARB [63]. El uso de radiación UV es eficaz para dañar el ADN y ARN, así como inactivar células en microorganismos, es usada también, ya que genera pocos subproductos de desinfección, pero gracias a la radiación generada, se acelera la HGT, gracias a elementos móviles genéticos, lo cual permite la proliferación de ARB y la alteración de los hábitats acuáticos,

por ejemplo, se ha registrado resistencia por parte de ARB resistentes a la tetraciclina después del tratamiento con radiación UV, además, su eficiencia de reducción es baja, siendo menor a 70% [63-65]. El método de oxidación avanzada es una tecnología efectiva para eliminar ARG, pero de costo elevado, mientras que la coagulación/floculación química también demanda un costo elevado, en comparación con ozonización, irradiación UV o cloración [66]. La cloración es capaz de reducir en mayor porcentaje ARG y ARB ya que altera una variedad de componentes subcelulares y procesos metabólicos, es uno de los métodos más usados para la desinfección del agua después de un tratamiento secundario, pero su grado de efectividad depende de la concentración a la que se use, siendo que a mayor concentración, mayor efectividad, sin embargo, si en el agua se encuentran productos químicos a base de nitrógeno, bromuro o yodo, el cloro se puede mezclar y formar subproductos de desinfección, muchos de ellos cancerígenos [67, 68]. Los procesos de oxidación avanzada involucran agentes químicos (por ejemplo, metales, peróxido de hidrógeno o semiconductores) y fuentes de energía auxiliar como luz UV o luz solar. Algunos ejemplos son: reacción de Fenton, H_2O_2/TiO_2 /luz del sol, y UV/ H_2O_2 son alternativas a los procesos de desinfección comunes (UV, de cloro y ozono)[69]. Sin embargo, no hay estudios suficientes que permitan evaluar la eficiencia de estos métodos ante ARG y ARB. Los sistemas de membranas de filtración que incluyen ultrafiltración, nanofiltración y ósmosis inversa utilizan un medio poroso para separar y eliminar contaminantes para obtener agua de grado purificada [70, 71]. En el caso de la ósmosis inversa, ésta es capaz de eliminar minerales disueltos en un 99% y orgánicos e ingredientes y sustancias coloidales en un 97% [72]. En general, estos sistemas de filtración, eliminan contaminantes orgánicos, metales pesados, pero son sensibles a depósitos biológicos, además de que se pueden obstruir por sales minerales, por lo tanto se necesita combinar estos procesos para mejorar su eficiencia, filtrar mayor cantidad de agua en tiempos reducidos pero algunos inconvenientes son el mantenimiento por obstrucción, su costo relativamente elevado [73]. El uso de la nanotecnología permite la flexibilidad de combinar tecnologías como fotocatalisis y nanofiltración para eliminar contaminantes en tratamientos avanzados al agregar nanomateriales con propiedades antibacterianas, por lo tanto es una alternativa a los métodos de desinfección tradicionales [74]. Sin embargo, faltan más estudios acerca de su perduración en distintos ecosistemas y el efecto nocivo que pueda tener sobre estos a largo plazo.



Esquema 2.5. (a) seguimiento de tratamiento de agua tratada en un proceso avanzado y; (b) procesos usados en tratamientos avanzados.

2.5. Nanociencias y nanotecnología

La nanociencia y la nanotecnología se basan en la manipulación de átomos y moléculas individuales para conformar materiales a escala nanométrica (escala conferida de 1 a 100 nm) en una o varias de sus dimensiones, habiendo nanomateriales en forma tridimensional o lineal (0D y 1D) y figuras geométricas o películas delgadas (2D y 3D) (figura 2.2), y se forman a partir de un dominio interdisciplinario y emergente que abarca la física, la química, la biología, ciencia de materiales, entre otros [75-77]. La palabra nano es un prefijo griego que denota una escala a una milmillonésima parte de un metro (1×10^{-9} m). A partir de esto, se define a la nanociencia como aquella ciencia que estudia los fenómenos, las propiedades y las respuestas de los materiales a escalas atómica, molecular y macromolecular, mientras que la nanotecnología diseña, manipula, construye, produce y la aplica a estructuras, dispositivos y sistemas con tamaños inferiores a 100 nm [78]. La nanotecnología, gracias a las diversas aplicaciones que pudiera tener, se le ha tratado de dar una definición más acertada y precisa para poder normalizar y regularla. Varios organismos interesados en este campo

como la Unión Europea o la ISO han consensado definiciones a la nanotecnología y los nanomateriales. De acuerdo con la definición del comité técnico sobre nanotecnología de la ISO / TC229, la nanotecnología aplica el conocimiento científico para manipular y controlar la materia predominantemente en la nanoescala para utilizar el tamaño, las propiedades y fenómenos dependientes de la estructura, distintos de los asociados con átomos individuales o moléculas, o la extrapolación forma tamaños más grandes del mismo material, mientras que los nanomateriales son con cualquier dimensión externa en la nanoescala o con una estructura interna o estructura de superficie en la nanoescala [79].

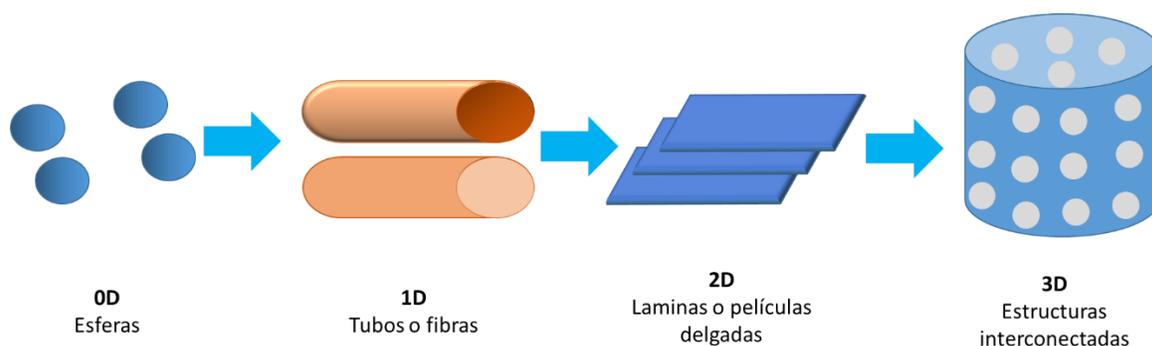


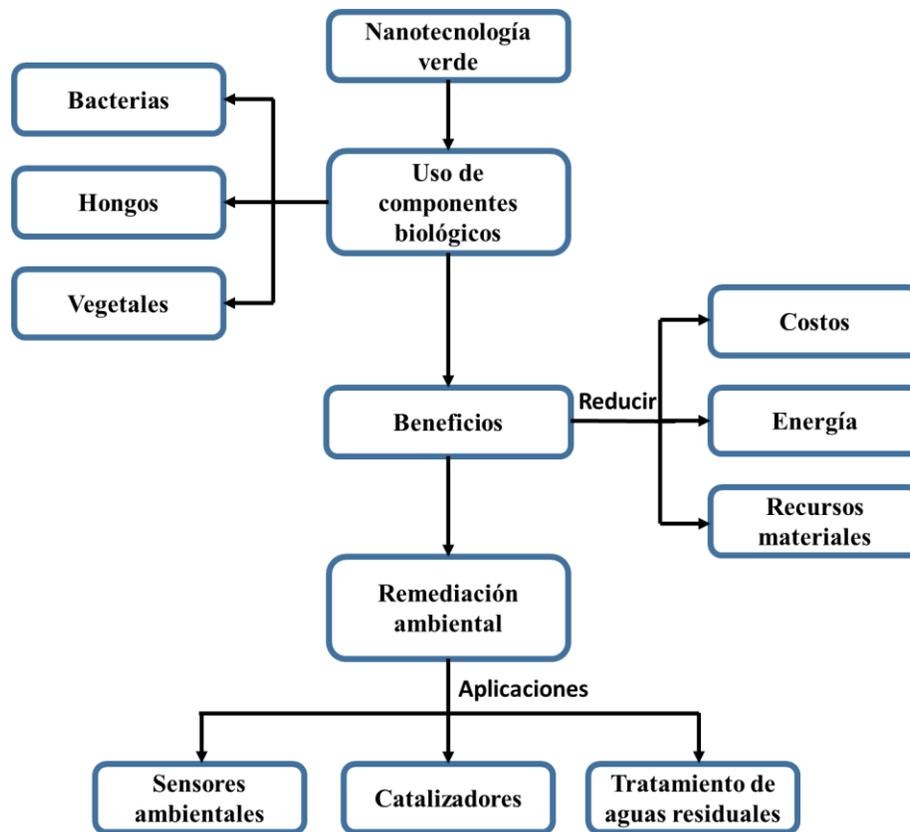
Figura 2.3. Dimensiones presentes en los nanomateriales.

La síntesis de nanomateriales se lleva cabo por métodos físicos como molienda, ablación láser, deposición por vapores químicos; por métodos químicos como sol-gel, solvotermal, coprecipitación y por reducción; y actualmente, por métodos biológicos utilizando precursores biológicos por biorreducción [80]. La síntesis de nanomateriales llevada a cabo por métodos físicos genera residuos abundantes y, por ende, resulta ser más costoso, mientras que por métodos químicos resulta en el uso de estabilizadores orgánicos, estabilizadores y agentes reductores que resultan tóxicos o no compatibles con el ambiente, además de costoso [81, 82]. A partir de la fabricación de nanomateriales se pueden obtener nanoestructuras, nanocompuestos, agregados de nanopartículas, nanosensores, y recubrimientos. Sus aplicaciones están presentes, por ejemplo, en la energía eólica, donde nanotubos de carbono forman parte de matrices poliméricas de turbinas eólicas; en medicina, distintos tipos de nanopartículas metálicas son usadas para liberación de medicamentos en células o tejidos específicos; nanosensores a partir de nanopartículas de oro (Au NPs) para detección de patógenos transmitidos por alimentos [83-85]. Ya que la síntesis por métodos físicos y

químicos tienden a ser costosas y utilizan productos químicos peligrosos perjudiciales para el medio ambiente, la síntesis por métodos biológicos ofrece procesos amigables con el ambiente y con menos gasto de energía [86]. Con la creciente producción y aplicación de los nanomateriales, también lo ha hecho el interés ambiental y biológico por su producción, con esto, la intención de disminuir formulaciones con compuestos tóxicos durante su síntesis usando métodos biológicos para la síntesis de nanomateriales.

2.6. Nanotecnología verde

En las últimas décadas, gracias a las diversas propiedades de los materiales a nanoescala, la nanotecnología ha producido nanomateriales en diversos campos de aplicación, como en medicina con nanomateriales antimicrobianos o en áreas de remediación ambiental con sensores de detección de gases. Y aunque los nanomateriales tienen muchas aplicaciones al día de hoy, su producción histórica está acompañada de producción de subproductos contaminantes y de costos elevados. Es por esto que la nanotecnología actualmente se está apoyando en síntesis biológica, en otras palabras, en métodos de síntesis verde para reducir costos, energía y mejorar la sostenibilidad ambiental de los procesos de fabricación, a modo de minimizar posible riesgo ambiental en la síntesis convencional de nanomateriales [87]. Por ende, surge la nanotecnología verde, la cual se refiere al uso de la nanotecnología que apunta al desarrollo de tecnologías limpias para minimizar los riesgos ambientales potenciales y de la salud humana y, en este aspecto, se puede referir a ella como la evolución natural de la nanotecnología, impulsada precisamente por el enfoque al desarrollo sostenible [88]. A la nanotecnología verde se le puede interpretar de dos formas, primero como la implantación de procesos de origen biológico; segundo, llevando la nanotecnología a tópicos como que abarquen el dominio de la tecnología ambiental como remediación ambiental, protección del medio ambiente y monitoreo ambiental [88].



Esquema 2.5. Nanotecnología verde en aplicación de remediación ambiental

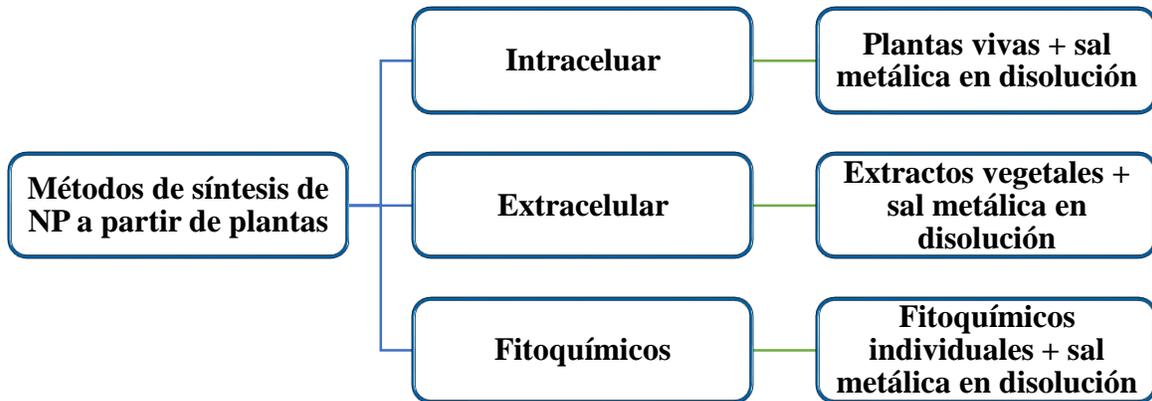
Tomando en cuenta los sistemas biológicos como pequeñas fábricas con mecanismos eficientes, se pueden implementar o imitar dichos mecanismos en la fabricación de nanomateriales. Estos sistemas biológicos aplicados en síntesis de nanomateriales proporcionan procesos a partir de mecanismos utilizados en la naturaleza teniendo como resultado métodos más ecológicos, eficientes energéticamente, rentables y biocompatibles. En este enfoque biológico, se utilizan plantas y microorganismos como virus, bacterias, hongos y algas para la síntesis de nanomateriales [89-91].

2.6.1. Uso de plantas en la síntesis de nanopartículas metálicas

La síntesis de nanomateriales a partir de recursos biológicos es amplia y de fácil obtención. Al recurrir a metodologías donde se implementen síntesis verdes y al tomar en cuenta facilidad de procedimientos y costos, la elección de recursos biológicos de tipo vegetales presenta ventajas, principalmente en tiempo con respecto al uso de otro tipo de recursos biológicos, es decir, al implementar metodologías usando partes de plantas, su obtención se hace en una serie de pocos pasos comparada con, por ejemplo, bacterias u hongos, donde el

procedimiento suele ser más tardado debido al aislamiento de microorganismos potenciales, o condiciones especiales de preparación de cultivos para llevar a cabo la síntesis [92]. La fácil disposición y gran diversidad, así como la viabilidad económica de entidades vegetales, permite la obtención de NPs de metales y óxidos metálicos con procedimientos ecológicos y las ventajas de rentabilidad, metodologías simples de síntesis y ahorro de energía ya que las reacciones pueden ocurrir a temperatura ambiente y presión atmosférica [93]. La síntesis de NPs a partir de plantas, también llamada síntesis por química verde o Fitonanotecnología, se puede clasificar en tres métodos, extracelular, intracelular y a través de fitoquímicos (esquema 2.5) [94]. El método extracelular implica el uso de extractos vegetales como materia prima en la síntesis de NPs. En el caso del método intracelular para sintetizar NPs, se llevan a cabo reacciones enzimáticas dentro de células de tejidos vegetales en distintas partes de una planta, después de esto, se rompen los tejidos vegetales para recuperar las NPs. El método fitoquímico implica conocer los componentes exactos (fitoquímicos requeridos) de una parte vegetal para llevar a cabo las reacciones requeridas para obtener las NPs, sin embargo, suele ser un método poco común. De los tres métodos, el método extracelular es más accesible económicamente y sencillo metodológicamente. Entonces, con el método extracelular la síntesis se lleva a cabo con la ayuda de agentes reductores y estabilizadores provenientes de extractos vegetales (figura 2.4) obtenidos a partir partes de plantas como raíces, tallos, flores, hojas, frutas, tubérculos, savia, etc., los cuales permiten obtener NPs, manteniendo su estabilidad, biocompatibilidad y diversas morfologías modificando parámetros de pH, temperatura y presión [95, 96].

A grandes rasgos, los extractos vegetales se componen de fitoquímicos o biomoléculas y metabolitos secundarios como ácido fenólico, flavonoides, alcaloides, terpenoides, esteroides, saponinas, glucosa, fructosa, ácido ascórbico, alcoholes, ácidos carboxílicos, amino ácidos, proteínas, enzimas, etc. encargados de reacciones de reducción, además proporcionan agentes estabilizadores y agentes de protección para la síntesis de NPs nanomateriales (principalmente NPs de metales y óxidos metálicos) en masa [90, 97].



Esquema 2.1. Clasificación de métodos de síntesis de nanopartículas a partir de plantas.

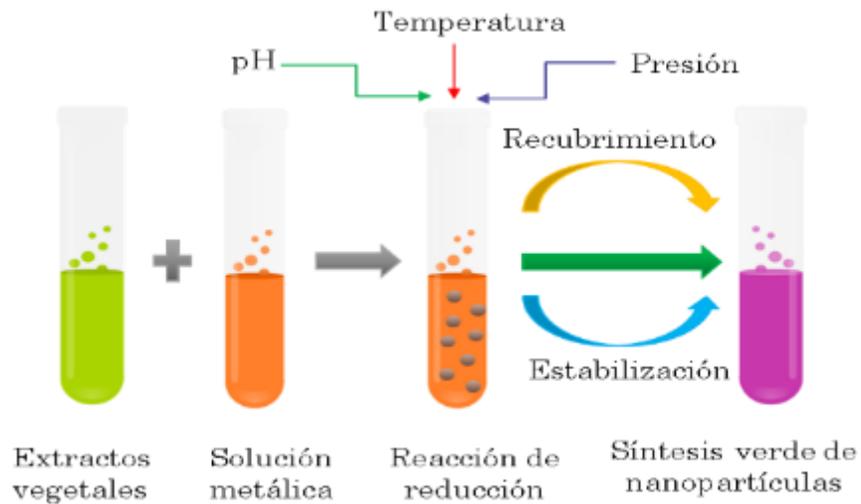


Figura 2.4. Síntesis verde de NPs a partir de extractos vegetales.

Varios tipos de NPs metálicas y de óxidos metálicos se han preparado con éxito a partir de extractos vegetales comunes y exóticos que funcionan como agentes reductores y estabilizadores con diferentes morfologías y en diversas actividades como aplicaciones antibacterianas, fotocatalizadores y en el tratamiento de aguas residuales (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Extractos de plantas para formación de las nanopartículas y sus aplicaciones.

Planta	Parte de la planta	NPs	Tamaño (nm)	Forma	Aplicación	Ref.
<i>Camellia sinensis</i>	Hojas	Níquel	43.87–48.76	Esférica	Fotocatálisis	[98]
<i>Cinnamomum verum</i>	Corteza	Manganeso	50-100	Esférica	Antibacteriano y fotocatalisis	[99]
<i>Citrus limetta</i>	Cascara de fruta	Plata	~38	Esférica	Antibacteriano	[100]
<i>Citrus sinensis</i>	Bagazo	Plata	19.1 ± 4.7	Esférica	----	[101]
<i>Dalbergia coromandeliana</i>	Raíces	Oro	~10.5	Esférica	Catálisis	[102]
<i>Mangifera indica,</i> <i>Murraya koenigii,</i> <i>Azadiracta indica,</i> <i>Magnolia champaca</i>	Hojas	Hierro	100-150	Esférica	Tratamiento de aguas residuales	[103]
<i>Mimusops coriacea</i>	Hojas	Plata	10 - 30	Esférica	Múltiples aplicaciones	[104]
<i>Mentha spicata</i>	Hojas	Óxido de zinc	20-70	-----	Optoeléctrica	[105]
<i>Nephelium lappaceum</i>	Cascara de fruta	Plata	132.6 ± 42	triángulo , triángulo truncado y hexagonal	Para productos en biomedicina y nanotecnología en la industria	[106]
<i>Ocimum tenuiflorum</i>	Hojas	Óxido de zinc	11-25	----	Diversas aplicaciones industriales	[107]
<i>Pistacia atlantica</i>	Hojas y frutos	Oro	50-60	Diferentes formas	Antibacteriano, antioxidante y citotóxico	[108]
<i>Punica granatum</i>	Semillas	Cobre	40-80	Semiesférica	Fotocatálisis	[109]
<i>Punica granatum</i>	Semillas	Platino	16-23	Esférica	Catálisis en tratamiento de agua agroindustrial	[110]

<i>Quercus (Roble)</i>	Cascara de fruta	Plata	~40	Esférica	Tratamiento contra el cáncer	[111]
<i>Stevia</i>	Hojas	Óxido de zinc	10-90	Rectangular	Eficiencia biomédica	[112]

2.7. Nanotecnología en el tratamiento de aguas residuales

Actualmente, la implementación de la nanotecnología en campos de remediación ambiental es atractiva debido a que cumple con los requisitos de detección y remoción de contaminantes al mismo tiempo que, debido a los métodos actuales de síntesis por química verde, es económicamente viable y se requieren bajos costos energéticos. La nanotecnología como una fuente de tecnología emergente, implementa distintos materiales a nanoescala, tanto metálicos como no metálicos para hacer frente a contaminantes ambientales, entre estos los contaminantes emergentes (como trazas de antibióticos y ARB) presentes en las PTAR [113, 114]. Los nanomateriales empleados van desde sensores de detección de contaminantes, fotocatalizadores, membranas de filtración y adsorción, además de desinfección microbiana. Ejemplo de las aplicaciones de la nanotecnología en el tratamiento de agua son: implementación de dióxido de titanio (TiO_2) y nanotubos de carbono con propiedades fotocatalíticas para la degradación de cafeína y ácido acetilsalicílico en ambientes acuáticos [113]; el uso de nanotubos de carbono y grafeno como adsorbentes de metales pesados en agua [115]; implementación de grafeno, fulerenos y nanotubos de carbono en matrices inmovilizadoras de enzimas para degradación de colorantes en aguas residuales textiles [116] y; aplicación de membranas de Ag- TiO_2 -APTES con propiedades antibacterianas y fotocatalíticas en el tratamiento de aguas residuales con tintes [117].

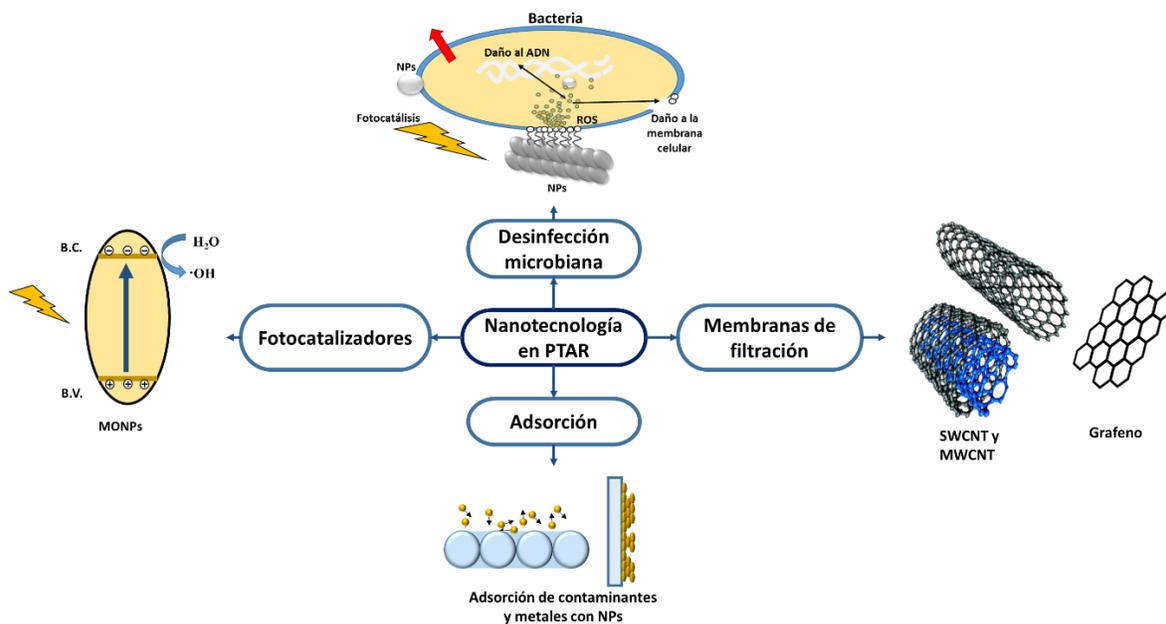


Figura 2.5. Ejemplos de usos de nanotecnologías en tratamientos de aguas residuales.

Las apariciones de bacterias resistentes a los antibióticos pueden acumularse en reactores biológicos o no eliminarse del todo de distintos procesos de desinfección bacteriana, es por eso que la implementación de nanomateriales con propiedades antibacterianas permite auxiliar en la eliminación de ARB sin generar una mayor resistencia.

2.8. Selección de nanomateriales con propiedades antibacterianas

La aparición de bacterias con resistencia a los antibióticos en distintas áreas humanas presenta problemas, dadas las enfermedades que pueden provocar y que es cada vez más difícil eliminarlas. Las bacterias presentan mecanismos de resistencia, principalmente a los antibióticos. A partir de información en sus genes, sus mecanismos de resistencia les permiten degradar antibióticos por medio de enzimas o modificando componentes celulares, principalmente en su pared celular para resistir a distintos antibióticos. Las nanopartículas (NPs), gracias a sus propiedades únicas, pueden actuar sobre la pared celular de las bacterias sin penetrar sus células, por lo cual, se espera que sean menos propensas a promover resistencia en las bacterias que los antibióticos [118].

Las propiedades antimicrobianas de las NPs son prometedoras, sin embargo, también se debe considerar que estas pueden promover la transferencia de ARG [119]. Por ahora se tienen modelos que explican a modo general como las NPs afectan a las bacterias. Los modelos

principales reportados sobre los efectos antimicrobianos presentes en las NPs son i) inducción de estrés oxidativo, ii) liberación de iones metálicos, o iii) mecanismos no oxidativos. Tales fenómenos pueden ocurrir uno a la vez o simultáneamente (figura 2.4) [118].

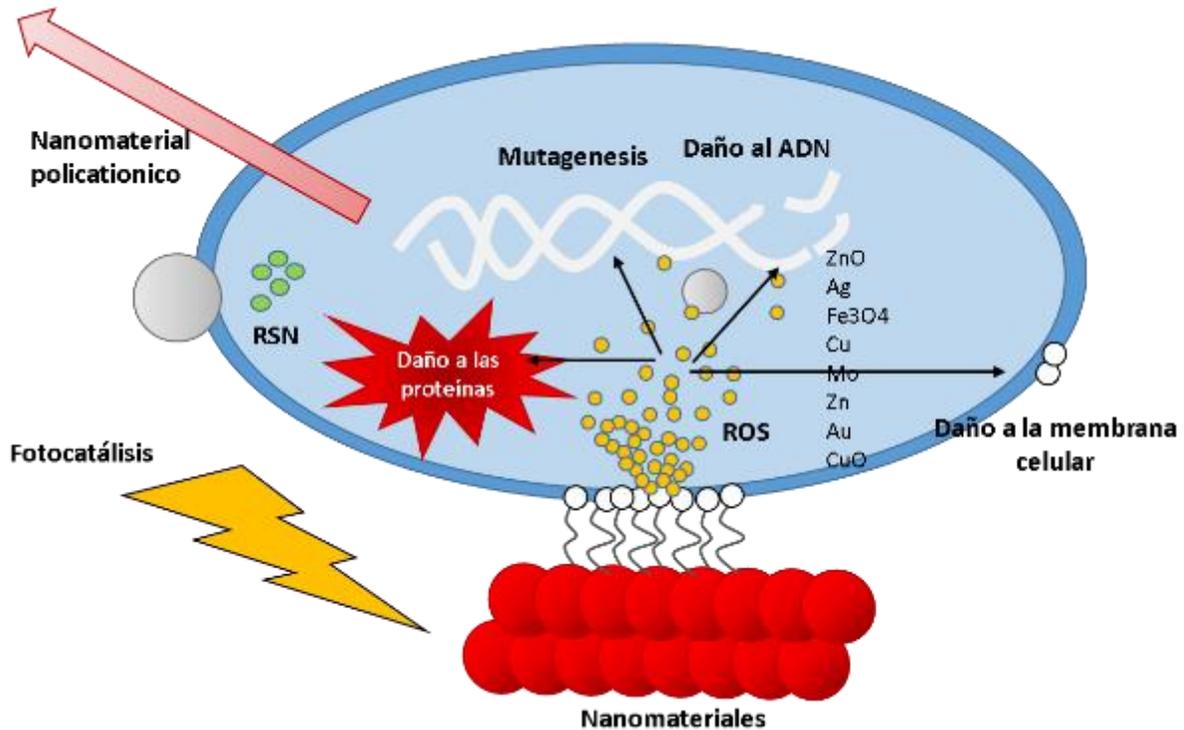


Figura 2.4. Comportamiento antibacteriano de nanomateriales. Las nanopartículas se puede adherir a la membrana celular o penetrar en ella provocando daño a las células y al ADN [120].

Las NPs metálicas y de óxidos metálicos son comúnmente investigadas por sus propiedades fotocatalíticas y antibacterianas. Las NPs antibacterianas prometen ser herramientas de control de crecimiento bacteriano, ya que se pretende evitar la aglomeración de comunidades bacterianas en forma de biopelículas en superficies con propiedades como la fotocatalisis. Se han identificado metales como la plata y el oro, así como óxidos metálicos como algunas ferritas, ZnO, Al₂O₃, TiO₂ como materiales biocidas y antibacterianos dada su particular aplicación fotocatalíticas que permite, entre otras cosas, el control de olores, degradación de contaminantes (principalmente de tipo orgánicos) sin residuos adicionales, así como la inactivación de bacterias [121, 122]. La aplicación de NPs magnéticas en el campo de catálisis para degradar compuestos en medios líquidos sugiere ventajas respecto a métodos

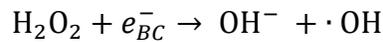
convencionales como la filtración de líquidos, centrifugación y cromatografía. Las NPs magnéticas (MNPs) se usan como soporte de catalizadores de metales y óxidos metálicos funcionando bajo campos magnéticos al fin de recuperar los catalizadores, además, son candidatos atractivos para inmovilizar, dirigir y eliminar bacterias de medios acuosos aplicando campos magnéticos externos [123, 124]. Las NPs magnéticas poseen propiedades antibacterianas debido a tres mecanismos: i) por la producción de ROS que dañan el ADN, ARN y proteínas lo que provoca inhibición y/o muerte celular en las bacterias; ii) por la liberación de iones metálicos y a veces, los metales pueden disolverse y; iii) por su tamaño que es inversamente proporcional a su propiedad antibacteriana, o sea, que mientras más pequeñas sean las NPs mejor actividad antibacteriana tendrá, sin embargo, esto sucede si las NPs están lo suficientemente cerca de las bacterias, entonces cuando este tipo de NPs se funcionalizan con otro tipo de materiales, se mejora su afinidad a estos microorganismos, a su vez, mediante campos magnéticos se puede dirigir a las NPs a áreas donde se encuentren biopelículas de bacterias, haciendo así, más eficiente el uso de sus propiedades antibacterianas [125, 126]. Se han hallado explicaciones a la fotodegradación de ferritas espinel en distintas condiciones, como lo son en agua, con reacciones oxidantes como reacción fenton y H_2O_2 . Cuando una ferrita es irradiada en presencia de luz, esta presenta un par de electrones/huecos (e_{BC}^-/h_{BV}^+) en su superficie y actuar como [127]:



- I. La generación de un hueco h_{BV}^+ podría reaccionar con el agua o con iones hidroxilo, esto da como resultado la generación de radicales hidroxilo:



- II. Un electrón e_{BC}^- generado podría ser atrapado por H_2O_2 , esto limita la recombinación de electrones/huecos, esto resulta en un mejoramiento de la actividad fotocatalítica:



- III. A partir de H₂O₂, y con la presencia de Fe (III) y Fe (II), se genera un reactivo fenton, lo que podría generar radicales hidroxilo:



2.8.1. Nanopartículas de plata

La plata es un metal con propiedades antibacterianas conocidas desde tiempo atrás. La plata es un elemento de la tabla periódica clasificada entre los metales nobles. Su uso data desde tiempos antiguos. El conocimiento empírico llevó a civilizaciones antiguas a utilizar la plata en distintas presentaciones en el área médica y conservación de alimentos. Por ejemplo, la antigua civilización griega y romana que usaban recipientes de plata para conservar la comida y el agua. Se utilizaron utensilios de plata en el viejo mundo para conservar alimentos y evitar enfermedades; en el siglo XIX ya se empezaba a usar plata directamente en las heridas, así como el uso de hilos de plata para suturar e incluso para aliviar resfriados, sin embargo, su uso se vio mermado con la llegada de los antibióticos [128]. Hoy en día, la plata es uno de los materiales más estudiados debido a sus aplicaciones en diversas áreas, por sus propiedades biocidas y por su gran producción.

Las nanopartículas de plata (Ag NPs) tienen una extensa aplicación en distintos campos donde se pretenda implementar sistemas de control antimicrobiano [129, 130]. Las Ag NPs tienen una gran estabilidad química, alta relación superficie/volumen, propiedades catalíticas y sobre todo propiedades antibacterianas, antivirales y antifúngicas, además de propiedades antiinflamatorias [131]. La síntesis de Ag NPs se realiza a menudo a partir de métodos de un solo paso en una reducción química, donde al implementar precursores de origen natural, como son extractos vegetales, se obtienen NPs de forma simple, económicamente viable y amigable con el ambiente [132]. La actividad antimicrobiana que presentan las Ag NPs se debe principalmente a su tamaño y forma, esto debido a que dependiendo de estos factores entra en contacto con diferentes áreas de los microorganismos [133]. A menor tamaño de Ag NPs, mayor será su toxicidad, así lo reportó Ivask y colaboradores en un estudio de toxicidad de Ag NPs, donde NPs de 10 nm eran más tóxicas por el tamaño y su biodisposición respecto

a la partícula/célula, mientras que NPs de 20-80 nm mostraron toxicidad debido a la liberación de iones de plata [134]. La forma de las Ag NPs también influye en la manera que interactúan las células de los microorganismos, las formas comunes de las Ag NPs son esféricas, triangulares y hexagonales. El-Zahry y colaboradores, en un estudio relacionando la toxicidad con la forma de las NP concluyeron que las Ag NPs hexagonales presentan un efecto más tóxico contra *E. coli* que las esféricas [135], mientras que las Ag NPs triangulares no presentaban este efecto, por otra parte, Alshareef y colaboradores hicieron un estudio con Ag NPs octaédricas truncadas y Ag NPs esféricas contra las bacterias *E. coli* y *S. faecium*, donde concluyeron que las Ag NPs octaédricas truncadas tiene un mayor efecto antibacteriano [136]. La forma de las Ag NPs influyen en gran medida en los efectos antibacterianos, además de la concentración a la que se use, ya que la respuesta a una concentración mayor y alta susceptibilidad bacteriana es alta [137]. A partir de la concentración y el método de fabricación de Ag NPs se obtiene las concentraciones necesarias para la inhibición de crecimiento bacteriano. Otro aspecto a considerar es la adherencia electrostática y el pH presente al momento de la interacción entre célula y NPs, el pH bajo parece favorecer la unión de las Ag NPs a las membranas celulares, mientras que, en un pH neutro la adherencia es más tardada [138, 139]. La síntesis verde favorece la carga de las Ag NPs, ya que, al cargarlas negativamente mediante interacciones electrostáticas con la membrana favorecen la adherencia a la membrana celular, por lo que hace más efectivo el efecto antimicrobiano. Los precursores de tipo biológico para síntesis verde reducen y protegen a las Ag NPs, estos contienen compuestos y biomoléculas naturales que ayudan a aumentar la probabilidad de unión de las Ag NPs a las células microbianas [140]. Se sabe que estas NPs no son de riesgo para organismos complejos, en otras palabras, las Ag NPs son seguras y no tóxicas para las células humanas y animales debido a su concentración baja, por lo que resulta extremadamente bajo el riesgo de toxicidad para el ambiente [133]. La Tabla 2.2 muestra distintos precursores en la síntesis de Ag NPs, así como la comparación de sus propiedades antibacterianas.

Tabla 2.2. Comparación de actividad antibacteriana de Ag NPs preparados a partir de diferentes agentes

Antibacteriano	Agentes	Bacteria	MIC ($\mu\text{g} / \text{mL}$)	ZDI (mm)	Ref.
Ag NP	^p <i>Citrus limetta</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	4.75	12.5 \pm 0.60 11.5 \pm 0.55	[100]
	^p <i>Dodonaea viscosa</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	-	13 10	[141]
	^p <i>Citrus sinensis</i>	<i>E. coli</i>	25	8.5-9	[142]
	^p Extracto de manzana	<i>E. coli</i> <i>S. ssp</i>	-	27	[143]
	^p <i>Annona muricata</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	-	15-17.5 13.3-14	[144]
	^p <i>Musa balbisiana</i>	<i>Bacillus</i> <i>E. coli</i>	-	16 \pm 0.016 14 \pm 0.02	[145]
	^p <i>Ocimum tenuiflorum</i>	<i>Bacillus</i> <i>E. coli</i>	-	14 \pm 0.021 14 \pm 0.017	
	^b Cepa <i>P. putida</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>B. cereus</i>	6.75 9 10.25	6.8-12.1 6.7-11.2 6.5-11	
	^h L-2-2 and MGE-201	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	2.20	-	[147]
	^a <i>Caulerpa racemosa</i>	<i>S. aureus</i>	-	7, 9, 12	[148]
	NaBH ₄ y citrato trisódico	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	20- 110	-	[149]

ZOI=zona de inhibición; MIC= concentración mínima inhibitoria; a= síntesis a partir de algas; b= síntesis a partir de bacterias; h= síntesis a partir de hongos; p= síntesis a partir de plantas.

2.8.2. Nanopartículas de zinc

Las NPs de óxidos metálicos (MONPs) gracias a su alta estabilidad, alta capacidad de carga, control de forma y de tamaño de poros, sus condiciones relativamente sencillas de preparación, sus propiedades fotocatalíticas y antimicrobianas la hacen llamativas para distintas aplicaciones [150, 151]. Las MONPs más estudiadas y utilizadas son las nanopartículas de óxidos de zinc (ZnO NPs) y las nanopartículas de óxido de titanio (TiO₂ NPs), ya que gracias a la biocompatibilidad con microorganismos complejos y naturaleza antibacteriana se aplican en distintas áreas, por ejemplo, en áreas donde requiere inhibición de microorganismos [91].

Las ZnO NPs tienen un amplio uso, además de ser médicamente seguras, gracias a su forma multimodal, ofrece un excelente rendimiento antiséptico. La propiedad más atractiva de las ZnO NPs es la fotocatalisis que se aplica principalmente en la degradación de contaminantes en área de remediación ambiental [152]. Los distintos métodos de síntesis, especialmente los que involucran métodos verdes, resuelven los problemas de costo, haciendo más accesible su uso [152, 153]. El uso de diferentes precursores, químicos y biológicos permite obtener diferentes formas de NPs a la vez que manifiesta actividad antimicrobiana (tabla 2.3). El uso de extractos vegetales limita el uso de químicos costosos y tóxicos, además de que proporciona fotoquímicos únicos. Se implementa la síntesis de biorreducción para ZnO NPs donde se reducen los óxidos metálicos a NPs de metal de valencia 0 con la ayuda de los fotoquímicos como terpenos, azúcares, vitaminas y aminoácidos secretados por las plantas, además de que favorece la producción en mayor volumen y no requiere de tantos aparatos como en una síntesis química tradicional [154]. Las condiciones de temperatura, pH, concentración de extracto y tiempo se pueden variar para optimizar la producción.

Los efectos antimicrobianos se dan por mecanismos de las ZnO NPs los cuales son: el tamaño pequeño y la relación área/superficie que favorece su unión a las células bacterianas por interacciones electrostáticas e irrumpiendo la membrana, provocando daño celular; y por su producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) o peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en la superficie de ZnO NPs a través de sitios de defectos produciendo en las bacterias estrés oxidativo que contribuye a la destrucción del material proteico celular, afectando consigo el ADN y los lípidos que conducen a la muerte celular de las bacterias [120, 153, 155]. Gao y colaboradores hicieron un estudio al sintetizar ZnO NPs hexagonales con extracto de cascara de *Citrus sinensis* contra *E. coli* y *S. aureus* y concluyeron que las NPs a menor concentración, se favorecía el crecimiento microbiano, mientras que a concentraciones altas se producía una citotoxicidad a las bacterias [156]. Elavarasan y colaboradores sintetizaron ZnO NPs esféricas a partir de extracto de hojas de *Sechium edule* contra *B. subtilis* y *K. pneumoniae*, concluyendo que la muerte de los patógenos debido a i) la producción de ROS y demás especies químicas que interactuaron con la membrana celular externa o ii) la interacción químicas entre el H_2O_2 y las proteínas de las bacterias [157]. En la Tabla 2.3 se muestran distintos precursores para la síntesis de ZnO NPs, así como su capacidad antibacteriana contra distintas bacterias.

Tabla 2.3. Comparación de actividad antibacteriana de ZnO NPs preparados a partir de diferentes agentes.

NPs	Agentes	Bacteria	MIC ($\mu\text{g} / \text{mL}$)	ZDI (mm)	Ref.
ZnO NP	^p <i>Cinnamomum verum</i>	<i>E. coli</i>	-	8	[158]
		<i>S. aureus</i>	-	8	
	^p <i>Nephelium lappaceum</i>	<i>E. coli</i>	-	18 \pm 6	[159]
		<i>S. aureus</i>	-	23 \pm 2	
	^p <i>Citrus sinensis</i>	<i>E. coli</i>	50	-	[156]
		<i>S. aureus</i>	-	-	
	^p <i>Sechium edule</i>	<i>B. subtilis</i>	-	6.02 \pm 0.1	[157]
			-	2 - 12.00 \pm 0.38	
	^p <i>Stachytarpheta jamaicensis</i>	<i>B. subtilis</i>	< 25x10 ³	12 \pm 0.10	[160]
		<i>S. aureus</i>	< 25x10 ³	11 \pm 0.0	
		<i>E. coli</i>	-	0.0 \pm 0.0	
	^p <i>Laurus nobilis</i>	<i>S. aureus</i>	1.77 \pm 0.3	23 - 26	[161]
		<i>P. aeruginosa</i>	1.99 \pm 0.7	24 - 27	
	^h <i>Aspergillus terreus</i>	<i>B. subtilis</i>	250	11.0 \pm 0.1	[162]
		<i>S. aureus</i>	250	10.5 \pm 0.2	
<i>E. coli</i>		500	9.2 \pm 0.1		
^a <i>Ulva lactuca</i>	<i>B. pumilis</i>	-	21.2 \pm 0.9	[163]	
	<i>E. coli</i>	-	24.0 \pm 1.0		
NH ₄ OH	<i>S. aureus</i>	-	20	[164]	
	<i>S. typhimurium</i>	-	10		

ZOI=zona de inhibición; MIC= concentración mínima inhibitoria; a= síntesis a partir de algas; b= síntesis a partir de bacterias; h= síntesis a partir de hongos; p= síntesis a partir de plantas.

2.8.3. Ferrita de hierro o magnetita

El hierro está presente en gran porcentaje en la Tierra. Junto con el cobalto, el níquel y algunos óxidos metálicos. El hierro presenta propiedades catalíticas que se emplean en medios líquidos para ser recuperados por medio de campos magnéticos [123]. Entre los óxidos metálicos se encuentra un grupo interesante, estos son los óxidos de hierro. El óxido de hierro más común en la naturaleza es el óxido de hierro (III) (Fe₃O₄), también llamado magnetita. La magnetita nanométrica es un óxido de hierro cristalino, la forma ordenada de sus átomos le brinda una estructura espinela inversa cúbica, lo que hace que entre los sitios intersticiales, se ocupen por cationes de hierro (Fe⁺² y Fe⁺³) (Figura 2.5) [165]. La propiedad

característica de Fe_3O_4 es el magnetismo, además de actividad fotocatalítica, teniendo aplicaciones en campos de la biomédica, salud, agricultura y remediación ambiental [166-168]. Sin embargo, Fe_3O_4 desnudo tiende a aglomerarse, por lo tanto, su estabilidad se ve reducida con el paso de tiempo y, por ende, algunas de sus aplicaciones, como lo es su eficiencia fotocatalítica que se ve reducida. Es por ello que suele doparse con otros materiales para mejorar su estabilidad, así como su actividad fotocatalítica. Entre estos materiales se encuentra el grafeno (forma alotrópica del carbono), que le brinda estabilidad, ya que su eficiencia fotocatalítica se ve mejorada debido a que el grafeno evita una aglomeración de partículas y disminuye la tasa de recombinación de electrones, lo que brinda una mejor fotoexcitación en la banda de conducción [169]. Así, al recubrir o dopar el Fe_3O_4 , se ven mejoradas varias de sus propiedades, entre estas, propiedades antibacterianas, dado el hecho de que las NPs de Fe_3O_4 tiene poca toxicidad y actividad antibacteriana. En la Tabla 2.4 se hace una comparación de Fe_3O_4 con dopados con distintos componentes a partir de síntesis con diferentes agentes y sus propiedades antibacterianas.

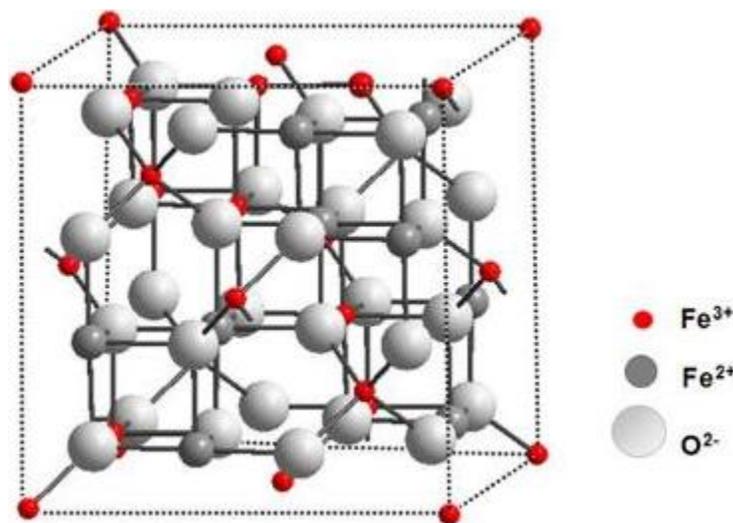


Figura 2.5. Estructura de espínela inversa de óxido de hierro (Fe_3O_4) [170].

La síntesis NP de Fe_3O_4 se lleva a cabo por distintos métodos, entre ellos la síntesis por coprecipitación, ecoquímica, descomposición térmica, microemulsión e hidrotérmica. De estos métodos de síntesis, el método hidrotérmico presenta características llamativas ya que no necesita de mucho material, y no se suelen usar tensoactivos o solventes orgánicos ya que el método implica solo presión y temperaturas altas en un reactor, lo que provoca una buena

difusividad de las sales y con ello, la generación de NPs de granos finos y buena cristalinidad [171].

Tabla 2.4. Comparación de actividad antibacteriana de Fe₃O₄ NPs preparados a partir de diferentes agentes.

NPs	Agentes	Bacteria	MIC (µg / mL)	ZDI (mm)	Ref.
Fe ₃ O ₄ -MgO	Aceite esencial de nuez moscada	Salmonella	0.78	15.16 ± 2.18	[172]
		<i>S. aureus</i>	0.39	18.25 ± 1.27	
		<i>E. coli</i>	0.39	25.67 ± 2.25	
		<i>P. aeruginosa</i>	0.39	25.42 ± 1.61	
Ag/Fe ₃ O ₄	Almidón	<i>E. coli</i>	15.6	-	[173]
Fe ₃ O ₄	^p <i>Citrus sinensis</i>	<i>S. aureus</i>	-	4	[174]
		<i>E. coli</i>	-	3	
Fe ₃ O ₄	^a <i>Colpomenia sinuosa</i> y ^a <i>Pterocladia capillacea</i>	<i>B. subtilis</i>	-	5.75 ± 2.25	[175]
		<i>S. aureus</i>	-	5.75 ± 2.25	
		<i>A. flavus</i>	-	8.37 ± 6.62	
		<i>F. oxysporum</i>	-	8.37 ± 6.62	
Fe ₃ O ₄	NaOH	<i>S. aureus</i>	150	-	[176]
		<i>B. cereus</i>	150	-	
Fe ₃ O ₄	NaOH, quitosano y ácido acético	<i>B. subtilis</i>	-	18 ± 0.5	[177]
		<i>E. coli</i>	-	16 ± 0.5	

ZOI=zona de inhibición; MIC= concentración de inhibición mínima

a= alga, b= Bacteria, h=hongo, p=planta

2.8.4. Ferrita de cobalto

Las ferritas son un tipo de óxidos de hierro que, además de llevar hierro (II), se une un metal que le confieren propiedades únicas, su fórmula se puede definir como MFe₂O₄, donde M es un metal noble, comúnmente Co, Ni, Cu y Zn. [122, 178-180]. Las ferritas espinela tienen características interesantes como un área de superficie alta, así como propiedades antimicrobianas, actividad fotocatalítica, porosidad, propiedades elásticas y magnéticas. Las ferritas de cobalto (CoFe₂O₄) son un tipo de ferritas interesantes, que por su estabilidad y el metal de Co que se sustituye, proporciona propiedades antibacterianas, fotocatalíticas, alto rendimiento magnético, comportamientos ferromagnéticos y estabilidad química [179, 181]. Tanto las ferritas como la magnetita pertenecen a la espinela inversa, que es un tipo de orientación estructural que le confiere sus propiedades magnéticas [171]. El cobalto usado a nivel industrial en diversas aplicaciones se considera tóxico y cancerígeno en animales debido a sus iones. La CoFe₂O₄ nanométrica en diversas investigaciones, se considera un material genotóxico y citotóxico, probado en cultivos celulares *in vitro*, además, tienen una

gran facilidad de entrar en la pared celular a diferencia de los iones de cobalto. Diversos estudios indican que las propiedades tóxicas de las CoFe_2O_4 se deben a la generación y/o inducción de ROS, que, a su vez, depende del tamaño de las partículas [182]. Las CoFe_2O_4 pueden doparse con otros metales (por ejemplo, Zn, Ni, Cu y Mn) o nanomateriales orgánicos (por ejemplo, grafeno y óxido de grafeno) para mejorar sus propiedades magnéticas, electrónicas y antibacterianas. La principal razón por la que el dopaje brinda propiedades antibacterianas a las CoFe_2O_4 es que estas adquieren una superficie irregular, superficie que al entrar en contacto con membranas celulares, causa un mayor daño [183]. Estudios diversos *in vivo* indican que se provoca estrés oxidativo en células en diferentes áreas del cuerpo, viajado a distintas áreas provocando daño, inflamación en órganos y muerte celular [184]. La Tabla 2.5 muestra una comparación CoFe_2O_4 dopadas con diferentes componentes a partir de distintos agentes para su síntesis y su relación con sus propiedades antibacterianas.

Tabla 2.5. Comparación de actividad antibacteriana de CoFe_2O_4 NPs preparados a partir de diferentes agentes.

NPs	Agentes	Bacteria	MIC (μg / mL)	ZDI (mm)	Ref.
CoFe_2O_4	^p <i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>S. aureus</i>		7-13	[185]
		<i>A. aureus</i>	-	5-9	
		<i>E. aerogenes</i>		5	
ZnO/ CoFe_2O_4	Cuajo	<i>S. aureus</i>	-	9-19	[186]
		<i>S. typhi</i>		8-16	
$\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Ag}$	NaOH PVP	<i>E. coli</i>		12-17	[187]
		<i>P. aeruginosa</i>	-	13-18	
		<i>S. aureus</i>		15-20	
$\text{CoCe}_x\text{Fe}_{2-x}\text{O}_4$	Urea	<i>B. subtilis</i>		14-21	[188]
		<i>S. aureus</i>	-	18-20	
$\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{Ag}/\text{Ag}_3\text{V}\text{O}_4$	Ácido cítrico	<i>K. pneumoniae</i>		18-27	[189]
		<i>E. coli</i>	-	19.5	
$\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{Ag}/\text{AgCl}$	Ácido cítrico	<i>E. coli</i>	-	19	[190]

ZOI=zona de inhibición; MIC= concentración de inhibición mínima; a= alga, b= bacteria, h=hongo, p=planta

2.8.5. Ferrita de níquel

Perteneciente a las ferritas espinela, la ferrita de níquel (NiFe_2O_4) tiene propiedades ferromagnéticas favorables debido a su arreglo de espinela, habiendo una distribución

igualitaria de Ni^{+2} y Fe^{+3} en sitios tetraédricos y octaédricos respectivamente (Figura 2.6), además, también tiene propiedades electrónicas, ópticas, detección de gas y humedad, electrónicas y mejoradas propiedades catalíticas [191]. Además de esto, la NiFe_2O_4 presenta desorden en su superficie lo que le brinda una alta permeabilidad [180]. El níquel es un metal de interés a nivel nanométrico, ya que nanomateriales a base de níquel presentan propiedades antibacterianas debido a la producción de ROS y con un campo magnético externo, pueden guiarse a sectores específicos en áreas distintas como remediación ambiental [192]. Por ejemplo, Ishaq et. al. (2017) usaron NiFe_2O_4 dopadas con α -alúmina para inhibir el crecimiento de bacterias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* presentes en agua contaminada, mostrando que, a medida que se agrega más ferrita, su efecto tóxico aumenta de igual manera en *P. aeruginosa* y *S. aureus*, teniendo un efecto mínimo en *E. coli* [180]. Usaron ferrita de cobre-níquel ($\text{Ni}_{0.5}\text{Cu}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$), aprovechando que los iones de níquel brindan mejores propiedades a temperatura ambiente, para probar su eficacia antibacteriana contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, teniendo resultados favorables tanto de CuFe_2O_4 como de NiFe_2O_4 individualmente, siendo NiFe_2O_4 el material con mayor actividad antibacteriana [192]. Se muestra en la Tabla 2.6 las propiedades toxicológicas de NiFe_2O_4 dopadas con distintos componentes contra distintas bacterias Gram (+) y Gram (-).

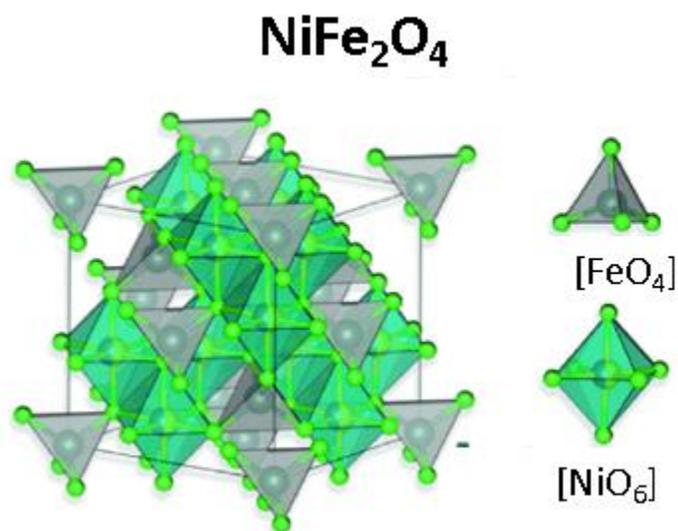


Figura 2.6. Representación de estructura de NiFe_2O_4 . Espacios de Ni^{+2} ocupados en los espacios octaédricos y espacios de Fe^{+3} ocupados por espacios tetraédricos en su mayoría [193].

Tabla 2.6. Comparación de actividad antibacteriana de NiFe₂O₄ NPs preparados a partir de diferentes agentes.

NPs	Agentes	Bacteria	MIC (µg / mL)	ZDI (mm)	Ref.
NiFe ₂ O ₄ @ PANI@ Ag	Ácido cítrico y NH ₄ OH	<i>E. coli</i>	-	6.4±0.10	[194]
		<i>S. typhi</i>		6.4±0.10	
		<i>S. aureus</i>		6.4±0.10	
		<i>B. cereus</i>		6.4±0.10	
NiFe ₂ O ₄	Ácido oleico	<i>S. aureus</i>	-	17.90 ± 0.14	[195]
		<i>E. coli</i>		22.50 ± 0.12	
NiFe ₂ O ₄ @ PANI@ Ag	Glicerina	<i>S. aureus</i>	-	10-13	[196]
		<i>B. subtilis</i>		9-13	
		<i>E. coli</i>		13-16	
		<i>P. aeruginosa</i>		8-9	
NiFe ₂ O ₄ /PAMA/Ag-TiO ₂	NH ₄ OH	<i>E. coli</i>	-	6.40	[197]
		<i>S. typhi</i>		6.40	
		<i>S. aureus</i>		6.40	
		<i>B. cereus</i>		6.40	
NiFe ₂ O ₄	Ácido cítrico	<i>S. typhi</i>	-	11	[191]
		<i>P. aeruginosa</i>		13	
		<i>E. coli</i>		6	
NiFe ₂ O ₄ @ TEOS - TPS @ Ag	Ácido cítrico y Hidróxido de amonio	<i>S. aureus</i>	5.40	10.30 ± 0.30	[198]
		<i>B. cereus</i>	21.50	10.90 ± 0.30	
		<i>E. coli</i>	10.80	10.70 ± 0.30	
		<i>S. typhimurium</i>	5.40	11.10 ± 0.30	

ZOI=zona de inhibición; MIC= concentración de inhibición mínima; a= alga, b= Bacteria, h=hongo, p=planta

2.8.6. Ferrita de zinc

La ferrita de zinc (ZnFe₂O₄) pertenece a las ferritas espinela. El catión Zn⁺² presente en la ferrita se posiciona en sitios octaédricos, mientras que Fe⁺³ se posiciona en sitios tetraédricos y octaédricos (Figura 2.7). ZnFe₂O₄ es utilizada entre cosas, para la eliminación de contaminantes por sus aplicaciones fotocatalíticas. El zinc presente en esta ferrita le brinda una alta estabilidad cristalina, permeabilidad magnética, alta conductividad electrónica, una banda prohibida de 1.9 eV y producción de ROS ($\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{O}_2^-$ y H₂O₂) [122]. Bajo irradiación de luz visible, el proceso de fotodegradación de las ZnFe₂O₄ produce radicales hidroxilo altamente reactivos y promueven la degradación de contaminantes. Además de esto, las ZnFe₂O₄ poseen un área superficial grande y estabilidad química que permiten altas cantidades de carga y una mayor área de contacto para producir una mayor productividad antibacteriana [199]. Camacho-Gonzales et. al. (2019) estudiaron los efectos antibacterianos

de $Zn_{1-x}Cu_xFe_2O_4$ sobre *Escherichia coli* (Gram (-)) y *Staphylococcus aureus* (Gram (+)), dando resultados favorables para inhibir el crecimiento de *E. coli*, ya que la actividad antibacteriana depende del contenido de Zn en la ferrita debido a las concentraciones baja y alta de Zn y Cu presente en la ferrita. [200]. Madhukara et. al. (2019) reportaron el uso de $Zn_{0.4}Co_{0.6}FeO_2$ contra *Salmonella typhi* y *Staphylococcus aureus*, mostrando buena actividad antibacteriana por parte del material, esto debido principalmente por la producción de ROS, pero también se involucran los efectos producidos por el tamaño, la morfología, el área de superficie, el aumento de las vacantes de oxígeno, la capacidad de difusión de las moléculas químicas y también la descarga de iones metálicos [186]. Esto indica que, el contenido de Zn en óxidos metálicos, así como en otros nanomateriales, como ZnO, resulta efectivo como materiales antibacterianos. En la Tabla 2.7 se muestra una comparativa de $ZnFe_2O_4$ dopada con distintas componentes, sintetizadas a partir de distintas agentes, así como su relación con sus propiedades antibacterianas.

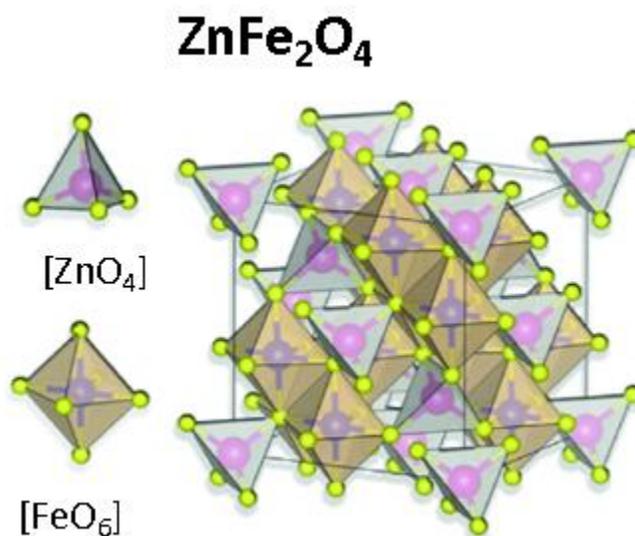


Figura 2.7. Representación de estructura de $ZnFe_2O_4$. Espacios de Zn ocupados en los espacios octaédricos y espacios de Fe ocupados por espacios tetraédricos en su mayoría [193].

Tabla 2.6. Comparación de actividad antibacteriana de $ZnFe_2O_4$ NPs preparados a partir de diferentes agentes.

NPs	Agentes	Bacteria	MIC (μg / mL)	ZDI (mm)	Ref.
-----	---------	----------	---------------------------	----------	------

ZnFe ₂ O ₄	^p <i>Aegle marmelos</i>	<i>B. subtilis</i>	-	23 ± 0.07	[201]
		<i>S. aureus</i>		22 ± 0.05	
		<i>P. aeruginosa</i>		25 ± 0.06	
		<i>E. coli</i>		17 ± 0.03	
ZnFe ₂ O ₄	^p <i>Limonia acidissima</i>	<i>S. aureus</i>	-	8.83 ± 0.33	[122]
		<i>E. coli</i>		10.50 ± 0.29	
		<i>P. desmolyticum</i>		7.33 ± 0.17	
		<i>K. aerogenes</i>		7.50 ± 0.29	
ZnFe ₂ O ₄	Caña de azúcar	<i>S. aureus</i>	-	5.50 ± 0.50	[199]
		<i>P. aeruginosa</i>		9.00 ± 0.50	
		<i>E. coli</i>		11.50 ± 0.50	
		<i>B. subtilis</i>		9.50 ± 0.50	
ZnFe ₂ O ₄	^p <i>Jatropha</i>	<i>P. aeruginosa</i>	-	4.50	[202]
		<i>E. coli</i>		14.50	
ZFCN@2 OPPY	Polipirrol	<i>E. coli</i>	-	17	[203]
CT- ZnFe ₂ O ₄	Ácido cítrico	<i>S. epidermidis</i>	32	17 ± 1.20	[204]
		<i>S. aureus</i>		16 ± 0.50	
		<i>E. coli</i>		19 ± 0.20	
		<i>P. aeruginosa</i>		22 ± 0.10	

ZOI=zona de inhibición; MIC= concentración de inhibición mínima; a= alga, b= Bacteria, h=hongo, p=planta

2.8.7. Puntos cuánticos de carbono

Entre los materiales antibacterianos que existen actualmente, como los materiales metálicos que producen iones metálicos o los lixiviados antibacterianos, se suman recubrimientos hidrófobos y los materiales dopados productores de ROS [205]. Entre los materiales productores de ROS, se encuentran los puntos cuánticos semiconductor. Los puntos cuánticos (QDs, por sus siglas en inglés) son un tipo de nanomaterial con dimensiones entre 1 y 10 nm en todas sus dimensiones (lo que lo hace un material 0D), esto restringe la movilidad de sus electrones en todas las direcciones, lo que les brinda estabilidad de fluorescencia, amplio espectro de emisión y excitación. Los QDs se obtienen a partir de materiales semiconductores, destacando de entre ellos el cadmio y selenio, ya sea en forma orgánica o en forma acuosa, pero este tipo de materiales son tóxicos y su costo es alto, por lo que no son viables para fines ambientales y de salud [206]. Dada esta situación, una fuente más apropiada a diversas aplicaciones, con las propiedades que brindan los QDs, es el carbono. Los puntos cuánticos de carbono (CQDs) pertenecen a los nanomateriales derivados

de carbono (formas alotrópicas) junto a los nanotubos de carbono, fullerenos y grafenos. Este material ha llamado la atención en los últimos años debido a propiedades ópticas y electrónicas como la transferencia de electrones fotoinducidos y propiedades de donador y aceptor de electrones, así como fotoluminiscencia, propiedades que tienen aplicaciones en áreas como la biodetección, la bioimagen, la administración de fármacos, la optoelectrónica, la fotovoltaica y la fotocatalisis [207]. Estas propiedades son atractivas en materiales semiconductores, sobre todo la propiedad fotocatalítica, debido que esto mejora propiedades en aplicaciones de degradación de contaminantes orgánicos [208]. Al combinar CQDs con metales, óxidos metálicos, polímeros y otros nanomateriales se obtiene materiales nanohíbridos con fluorescencia provenientes de CQDs con propiedades integradas de magnetismo, óptica o mecánicas, con aplicaciones interesantes [209, 210], por ejemplo, Zhong y colaboradores doparon vancomicina con CQDs para detección de bacterias diana de *S. aureus* en medios complejos al interactuar los grupos funcionales de CQDs con la superficie de las bacterias [211]; Shahshahanipour et. al. (2019) utilizaron CQDs a partir de métodos verdes contra bacterias *E. coli* (Gram (-)) y *S.aureus* (Gram (+)) en experimentos de difusión de discos y difusión en gel, teniendo resultados favorables, ya que los CQDs logran inhibir el crecimiento bacteriano [212]. Para mejorar la eficiencia de la fluorescencia, CQDs se puede dopar con varios elementos, como N, F y S, de los cuales N tiene una mayor investigación (siendo la etilendiamina uno de los precursores más utilizados) ya que se mejoran sus propiedades de emisión por inducción ascendente en el nivel de Fermi y de los electrones en la banda de conducción [210].

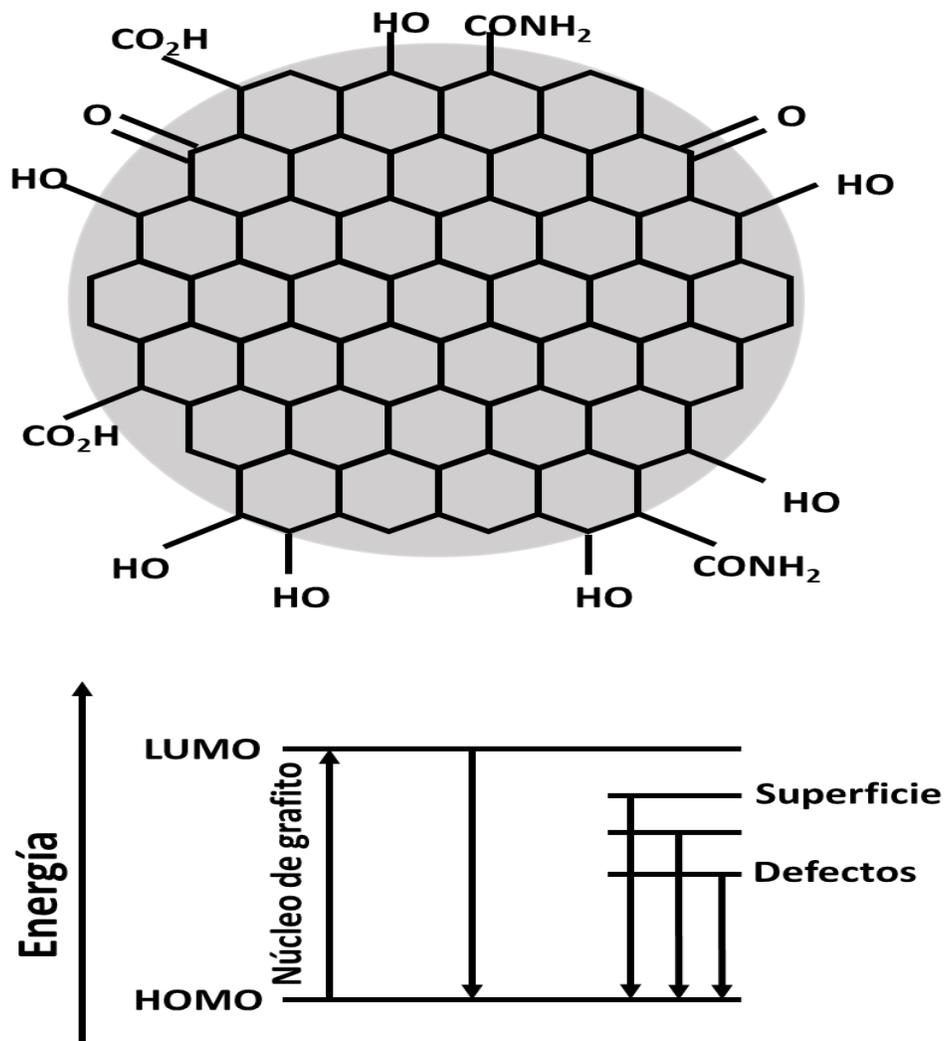


Figura 2.9. Diagrama general de los Puntos Cuánticos de Carbono [213].

Los CQDs no representan por sí solos un peligro de toxicidad, ya que CQDs desnudos o funcionalizados con algunos tensoactivos como poli-etilenglicol (PEG), no tienen efectos citotóxicos en células, e incluso esto permite utilizarlos en obtención de imágenes *in vivo* y biodetección. Al doparlos con algunos materiales como poli-ácido acrílico (PAA) o etilendiamina, presenta citotoxicidad respecto al tiempo y concentración de aplicación, por lo tanto, al mejorar su propiedad fluorescente, su toxicidad aumenta [210]. La combinación de CQDs con óxidos metálicos permite aumentar sus efectos fotocatalíticos para degradación y producción de ROS. Gracias a sus propiedades semiconductoras, los CQDs y en presencia de luz ultravioleta, poseen propiedades antibacterianas, debido a la producción de ROS, contra una gama amplia de bacterias [205].

Estudios recientes han demostrado que los CQDs pueden prepararse a partir de precursores biológicos, como lo son fuentes vegetales o compuestos específicos provenientes de éstas, como compuestos fenólicos como flavonoides, así como esteroides e hidrocarburos alifáticos. Estos compuestos contienen grupos funcionales (-OH, -COOH, C=O y NH₂) que, en condiciones adecuadas de carbonización, se deshidratan y forman grupos aromáticos, a partir de estos se forman núcleos de carbón fotoluminiscentes, donde la fotoluminiscencia depende en parte de la relación de estos núcleos de carbón con los grupos funcionales [212]. Esto permite incluir conceptos de métodos de química verde para producir nanomateriales, mermando residuos tóxicos. El método hidrotermal para síntesis de CQD es el más utilizado, debido a su sencillez y en un solo paso, además de su producción en masa [209].

2.9. Especies reactivas de oxígeno

Las especies reactivas de oxígeno (ROS), que engloban al peróxido de hidrógeno (H₂O₂), superóxido (O₂⁻), ácido hipocloroso (HOCl), radical hidroxilo (·OH) y oxígeno singlete, sirven como medidores de distintos procesos biológicos. En el cuerpo, estos cumplen funciones como la señalización celular y la respuesta inmune contra patógenos invasores. Sin embargo, se dan casos de sobreproducción de ROS, llamado estrés oxidativo, que se ve reflejado como daño a nivel celular, pudiendo oxidar el ADN o afectar negativamente a las proteínas [214].

Debido al uso excesivo de productos antibióticos, las bacterias han adquirido cierta resistencia a ellos. Es por ello que, en últimos años, los iones metálicos han interesado a los científicos como alternativa a agentes antibacterianos. Los iones metálicos presentes en el cuerpo, cumplen funciones de interrupción homeostática de patógenos que infectan el cuerpo humano a través de células inmunes, y con esto, su eliminación [215]. A nivel celular, la liberación de cationes metálicos (M⁺ⁿ) a partir de NPs, esto da como resultado en su relación con el daño a la membrana celular y producción de ROS, ya que diversos iones en un proceso redox, generan especies de superóxido que contribuyen a la degradación de biomoléculas [216]. Entonces algunas NPs pueden producir ROS, causando estrés oxidativo o apoptosis (muerte celular causada por un daño severo a componentes biológicos fundamentales como las proteínas y el ADN) que se refleja a nivel celular en la interacción con ácidos grasos poliinsaturados de la membrana celular o el citoplasma, alterando la conformación de los

fosfolípidos, que a su vez cambia el comportamiento de la membrana, deteriorándola rápidamente [217].

Los iones de Zn^{+2} , son los segundos más abundantes en el cuerpo humano, estos ayudan a protegerlo de infecciones, incluso su aplicación sobre heridas, ayudan a desinfectar [215]. Por lo tanto, el uso de zinc como agente antibacteriano, en su presentación de óxido (ZnO NPs), presenta actividad antibacteriana, y con irradiación de luz UV y visible, este efecto aumenta, ya que debido a la fotocatalisis que divide al agua por la liberación de e^- de oxígenos atrapados en las NPs se produce estrés oxidativo; en cambio, en ausencia de luz, ZnO NPs carece de generación de ROS, por lo que, en este caso, su actividad antibacteriana se debe a la liberación de Zn^{+2} (Figura 2.8.a) [218]. En el caso de las ferritas, los principales efectos biológicos que ocurren por la generación de ROS ($\cdot O_2$, $\cdot OH$ y $\cdot OOH$) depende de la tasa de producción, tasa de migración y de los niveles de energía de los pares e^-/h^+ excitados. Así, con irradiación sobre MFe_2O_4 , se genera un agujero h^+ en la banda de valencia, mientras que en la banda de conducción se excita un electrón e^- (Figura 2.8.b.) [186].

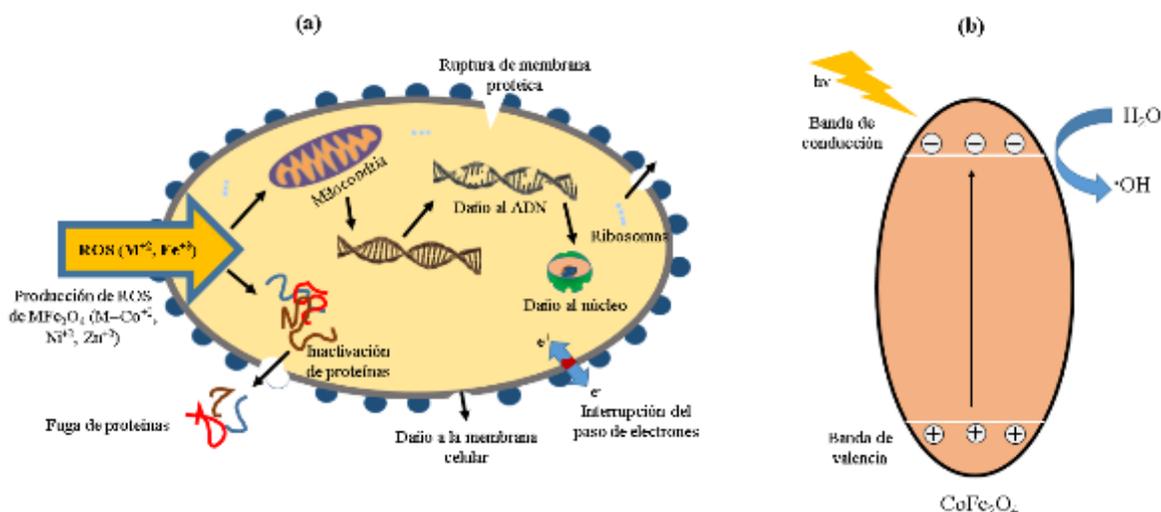


Figura 2.8. (a) Mecanismo de ferritas para producir daño y muerte celular a partir de la producción de ROS. (b) Representación de un semiconductor que, al ser irradiado por luz, la banda de valencia se excita dejando un hueco h^+ , mientras en la banda de conducción se excita un electrón que, genera energía para generar un radical hidroxilo a partir de agua [122, 181].

CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN

Debido a que los agentes reductores presentan múltiples inconvenientes, es necesario recurrir a métodos benignos con el ambiente en el momento de sintetizar NPs metálicas. Actualmente se buscan procedimientos que involucren explotar recursos biológicos renovables y en los últimos años, las plantas, las algas, los hongos, las bacterias y los virus se han utilizado para la producción de NPs metálicas no tóxicas a un costo bajo y con altas eficiencias energéticas, lográndose así, procesos termodinámicamente eficientes y con bajas huellas de carbono (Figura 1.1) [8]. Las plantas vasculares como agentes reductores en la síntesis de NPs son interesantes desde el punto de vista ambiental. Considerando simplicidad, sostenibilidad, medio ambiente y métodos amigables, se ha despertado un gran interés en la investigación relacionada con la aplicación de Nanociencia y Nanobiotecnología.

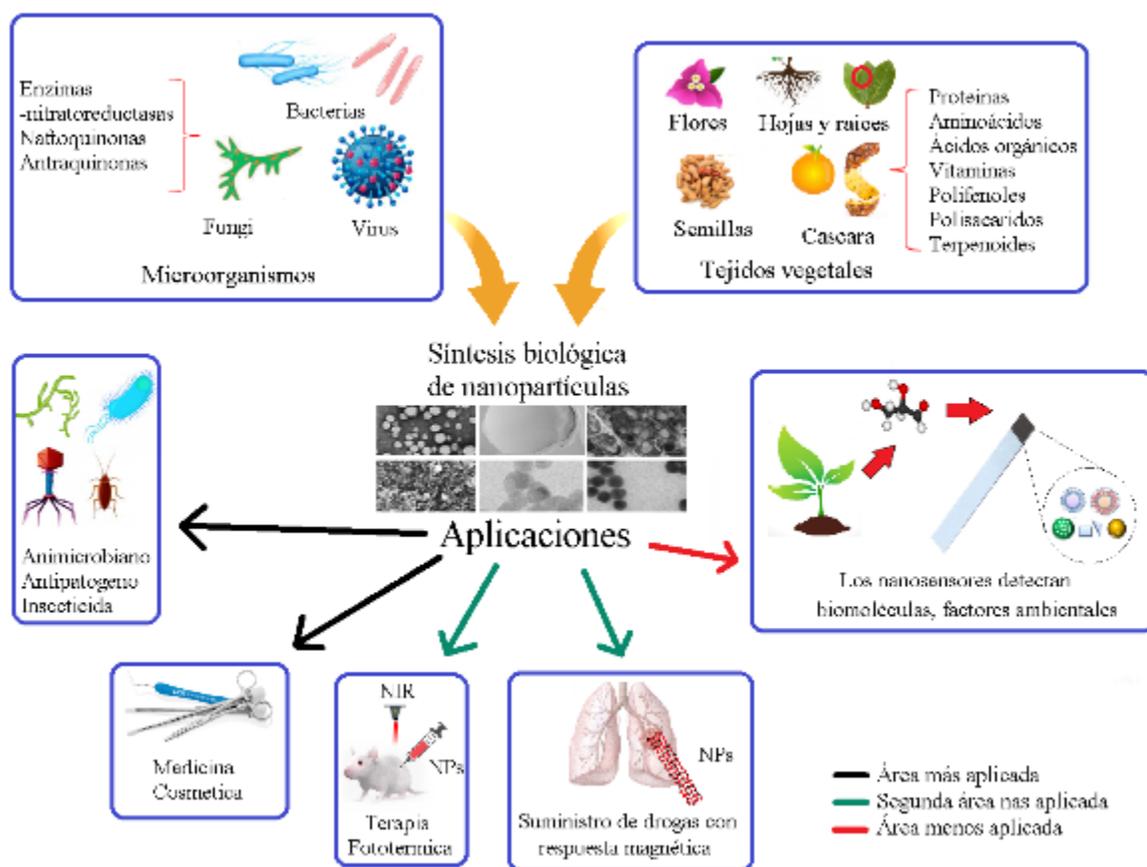


Figura 3.1. Relación de síntesis de nanopartículas mediante métodos biológicos y su aplicación en diversos campos científicos[91].

En años recientes, se han usado varias secciones de las plantas, incluidas hojas, frutos, tallos, raíces y sus extractos, para sintetizar nanopartículas metálicas mediante métodos de reducción directa. Se han sintetizado por ejemplo, nanopartículas de oro y plata (Au y Ag NPs, respectivamente) mediante el uso de hojas y raíces de la planta *Panax ginseng* [91], nanopartículas de sulfuro de cadmio (CdS-n) con cascara de plátano [219], y nanopartículas de zinc (Zn NPs) con frutos de *Artocarpus gomezianus* [220]. Las Ag y ZnO NPs son de gran interés por sus propiedades antimicrobianas (Figura 3.2) [221, 222]. Se ha mostrado que las ZnO NPs exhiben propiedades antibacterianas por su alta área superficial específica relacionada con el tamaño reducido que conduce a una mayor reactividad de la superficie de la partícula, además, el ZnO es un material que posee bajos impactos de fotooxidación y fotocatalisis en especies químicas y biológicas [222].

La plata metálica es efectiva contra bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Las Ag NPs tienen propiedades de estabilidad química y actividades catalíticas. Además, los métodos de síntesis por reducción para las Ag NPs asistidas por la luz tienen una ventaja en la reducción de iones Ag^+ [223].

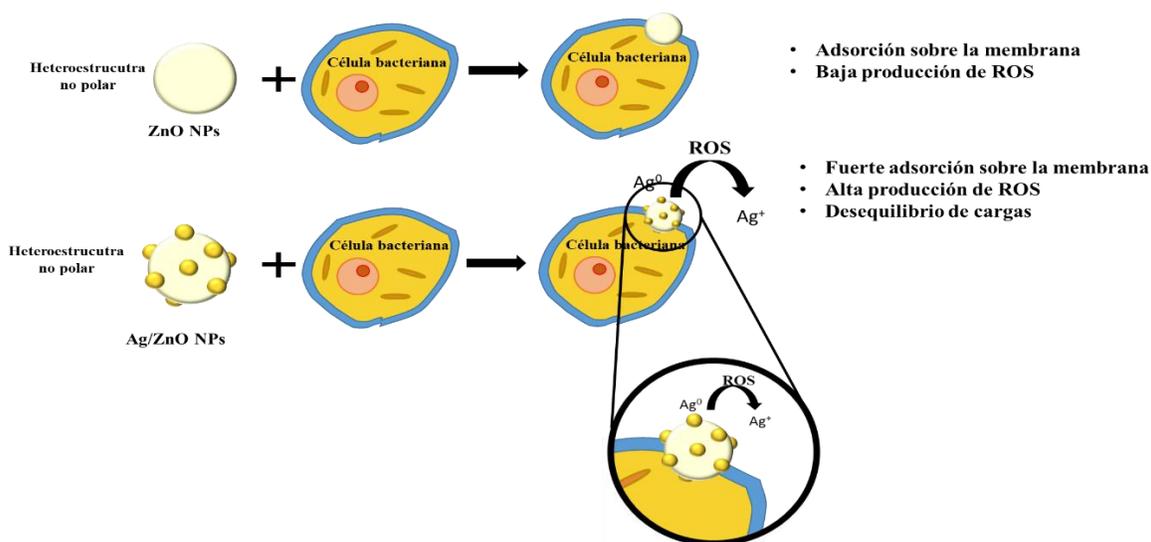


Figura 3.2. Interacción de las NP híbridas ZnO-Ag con células bacterianas. Las ZnO NPs como agentes antibacterianos, se adhieren a la membrana celular provocando especies reactivas de oxígeno (ROS), que conlleva a la muerte celular. Las nanopartículas de plata y zinc (Ag/ZnO NPs) adquieren una mayor adherencia y una mayor producción de ROS [224].

Por otra parte, los puntos cuánticos de carbón (CQDs) son de gran interés por su viabilidad económica y sus propiedades tales como: inercia química, buena biocompatibilidad, baja toxicidad y excelentes propiedades ópticas como material fotocatalítico. Los CQDs son NP fluorescentes, con grupos funcionales superficiales, pueden servir como sitios reactivos. Semiconductores como TiO_2 y ZnO se pueden combinar con CQDs para mejorar su eficiencia fotocatalítica, que se atribuyeron a una región de absorción de luz visible más amplia y una mayor separación de pares de electrones [225, 226]. La toxicidad de los CQDs respecto con las bacterias se debe a una interacción directa, informado en varios estudios. La toxicidad de CQDs depende del tamaño y carga superficial que se puede ajustar mediante la funcionalización de la superficie [227].

Las ferritas espinel con fórmula general MFe_2O_4 , donde M indica diferentes metales divalentes, tienen amplias aplicaciones en biomedicina, tratamiento de aguas residuales, catalizadores y dispositivos electrónicos. Para la eliminación rápida de contaminantes del agua y de las aguas residuales, las ferritas deben tener una excelente reactividad química y una alta capacidad de adsorción para facilitar la eliminación mediante el campo magnético externo [228]. Las ferritas poseen propiedades fotocatalíticas ya que absorben la luz visible de manera eficiente [229], permitiendo usar esta propiedad en la degradación de los contaminantes. Las ferritas de cobalto, por ejemplo, son conocidas por su separación eficiente después de la finalización de la reacción, la reutilización y la reciclabilidad magnética. Las ferritas de Zinc y Níquel presentan además de magnetismo, propiedades antibacterianas [229-231]. Las ferritas al presentar propiedades fotocatalíticas se pueden dopar con CQDs, para mejorar sus propiedades fotocatalíticas además de sus propiedades antimicrobianas. Con base en lo anterior, se propone preparar nanomateriales con propiedades antibacterianas a partir de extractos vegetales, para su aplicación en aguas residuales terciarias. Los materiales propuestos son:

- Ag NPs soportados en la superficie de ZnO NPs
- CQD soportados en MFe_xO_4 , donde M= Fe, Co, Zn y Ni

La toxicidad de las NPs se realizará con ensayos cualitativos y cuantitativos microbianos.

3.1. Objetivo general

Desarrollar un proceso de desinfección contra bacterias resistentes a los antibióticos presentes en aguas residuales por medio de nanomateriales sintetizados por métodos de química verde (uso de extractos vegetales).

3.1.1. Objetivos específicos

- Desarrollar un método sostenible para la preparación de Ag/ZnO NPs, C@ZnO NPs y C@MFe_xO₄ (M= Fe, Co, Zn y Ni) usando extractos vegetales, y caracterizarlos por diferentes técnicas analíticas (XRD, TEM, SEM, EDS) adecuados para desinfección bacteriana.
- Evaluar las propiedades de Ag/ZnO NPs, C@ZnO NPs y C@MFe_xO₄ como agentes desinfectantes usando bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*) y Gram negativas (*Escherichia coli* y *Salmonella typhi*) para determinar curvas de crecimiento bacteriano y concentración mínima inhibitoria.
- Determinar la eficiencia antibacteriana de Ag/ZnO NPs, C@ZnO NPs y C@MFe_xO₄ en los estudios antibacterianos por diferentes métodos.

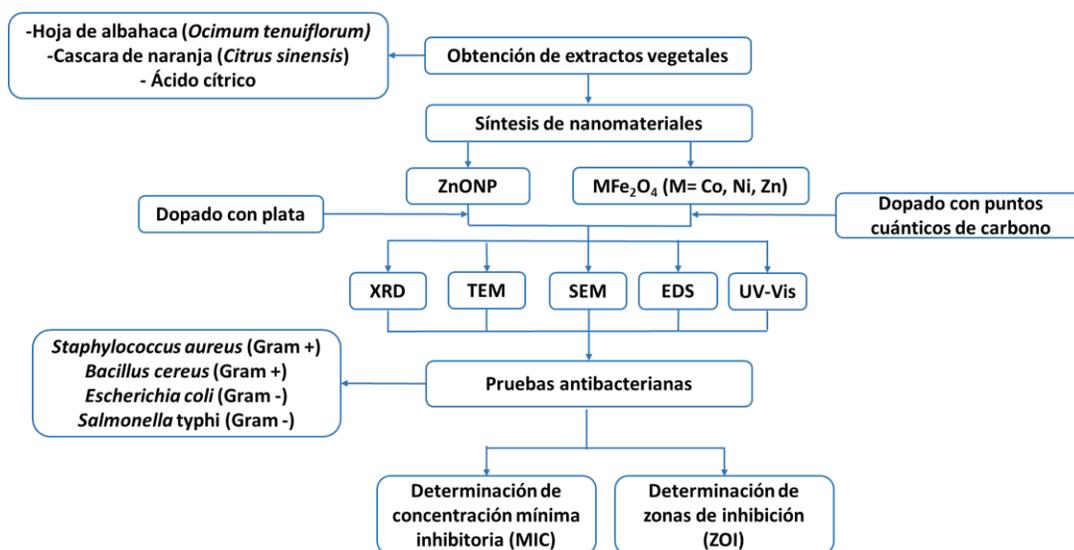
3.2. Hipótesis

Si se producen nanomateriales de óxidos metálicos a partir de extractos vegetales reduciendo productos secundarios adversos, y estos producen especies reactivas de oxígeno (ROS), entonces, se implementarían estos nanomateriales para tratamientos antibacterianos efectivos.

CAPÍTULO 4. METODOLOGÍA

En este capítulo se desglosa la metodología experimental empleada para obtener un mecanismo de inhibición de crecimiento celular a partir de la síntesis de nanomateriales, utilizando metodologías de química verde. Se manejaron parámetros de tiempo, temperatura y tipo de precursores a fin de obtener un mejor rendimiento. Para las pruebas de inhibición, se utilizaron bacterias Gram (+) y Gram (-). Se obtuvieron hojas frescas de la planta *Ocimum tenuiflorum* (albahaca morada) y cascara del fruto de *Citrus sinensis* (naranja común). Adicionalmente, se adquirieron los precursores metálicos de nitrato de plata (AgNO_3), nitrato de zinc [$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$], cloruro de hierro (III) (FeCl_3), cloruro de hierro (II) (FeCl_2), cloruro de zinc (ZnCl_2), cloruro de níquel ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), cloruro de cobalto (CoCl_2), ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) y etilendiamina ($\text{C}_2\text{H}_8\text{N}_2$).

Las síntesis de nanopartículas, su caracterización, así como las pruebas antibacterianas para evaluar las propiedades antibacterianas se simplifican en el Esquema 4.1.



Esquema 4.1. Metodología para llevar a cabo la síntesis de nanopartículas, su caracterización y pruebas antibacterianas.

4.1. Preparación de extractos de hoja de *Ocimum tenuiflorum* y cáscara de naranja de *Citrus sinensis*

Se prepararon extractos vegetales de hojas de *Ocimum tenuiflorum* (EOT) y cáscaras de naranja *Citrus sinensis* (ECS) (Figura 4.1). Inicialmente se lavaron las hojas y las cáscaras con

abundante agua para eliminar las partículas de polvo y luego dos veces más con agua destilada. Se secaron al aire a temperatura ambiente para eliminar la humedad residual. Una vez secas, las hojas se trituraron, mientras que las cáscaras se cortaron finamente en trozos. Se tomaron aproximadamente 2 g de hojas trituradas en un vaso de precipitado de vidrio de 50 mL con 20 mL de agua destilada y se hirvieron a 100°C durante 10 minutos. Posteriormente se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se filtró en papel filtro Whatman del No. 1. EOT se almacenó a 10°C para su uso posterior. Del mismo modo, se tomó aproximadamente 1 g de cáscaras de naranja finamente picada en un vaso de precipitado de vidrio de 50mL con 10mL de agua destilada y se hirvieron a 100°C durante 5 minutos. Posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró en papel filtro del No. 1. ESC filtrado se almacenó a 10°C para su uso posterior.

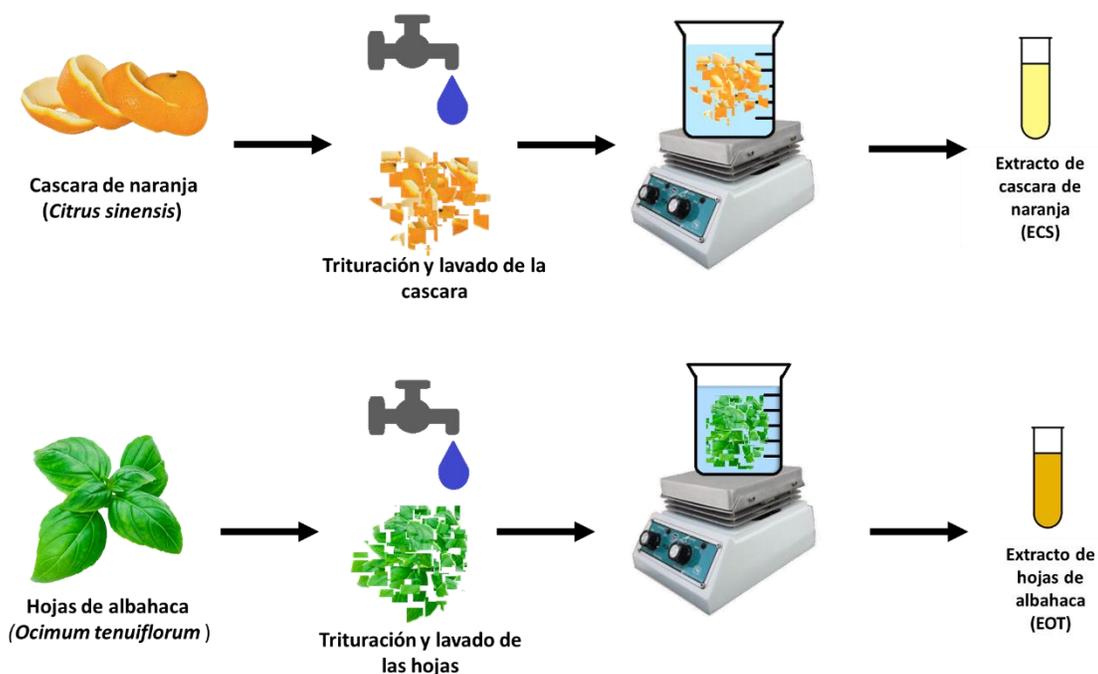


Figura 4.1. Preparación de extractos vegetales.

4.2. Componentes fitoquímicos de las hojas de *O. Tenuiflorum* y cáscara de naranja

Las hojas de *Ocimum tenuiflorum* se componen de compuestos aromáticos, entre ellos se encuentran hidrocarburos de fenilpropeno y sesquiterpeno en proporción de 62 y 22.5% respectivamente [232]. En cuanto a los compuestos principales, contiene aceites esenciales compuestos por metil eugenol (84.7%) con β -cariofileno (7.4%) [233].

La cáscara de naranja, contienen aceites esenciales que, a su vez, se componen de hidrocarburos, alcoholes, ésteres y aldehídos. Los componentes que promueve la reacción de reducción son: D-limoneno (73.9-97%), porcentajes discretos de linalol, geraniol y nerol [234, 235].

4.3. Preparación de nanopartículas de plata

En un procedimiento de reducción típico, se añadieron aproximadamente 3 mL de ECS en 30 mL de agua destilada, posteriormente se añadió 1.0 o 2.0 mM de nitrato de plata (AgNO_3) y se agitó constante durante 120 minutos a temperatura ambiente (Figura 4.2). A la par, se midió la reacción de reducción de AgNO_3 a Ag NPs en un espectrómetro UV-Vis. Las soluciones obtenidas se reservaron en un espacio oscuro a temperatura ambiente para minimizar la fotoactivación del nitrato de plata. Las Ag NPs se centrifugaron a 6000 rpm por 10 minutos para eliminar las impurezas y se usaron para caracterización.

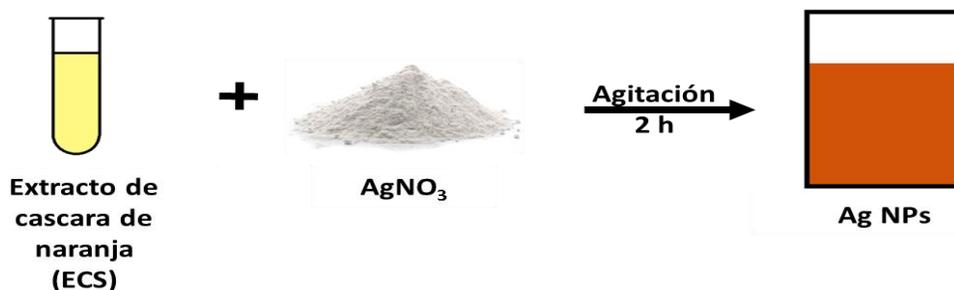


Figura 4.2. Preparación de Ag NPs.

4.4. Preparación de nanopartículas de óxido de zinc

Se usaron EOT y nitrato de zinc ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$) para preparar nanopartículas de óxido de zinc (ZnO NPs) (Figura 4.3). Se calentaron 20 mL de EOT a 70°C y luego se agregó 2 g de nitrato de zinc. La mezcla se dejó en agitación durante 2 horas. Se obtuvo una pasta amarilla ámbar. La pasta se secó a una temperatura de 130°C en una estufa. Posteriormente se llevó a un crisol y se calentó en un horno de mufla a 450°C durante 2 h para obtener un polvo (amarillo claro) de ZnO. Este material se convirtió en un polvo fino con un mortero de ágata. Las ZnO NPs se recuperaron para su caracterización.

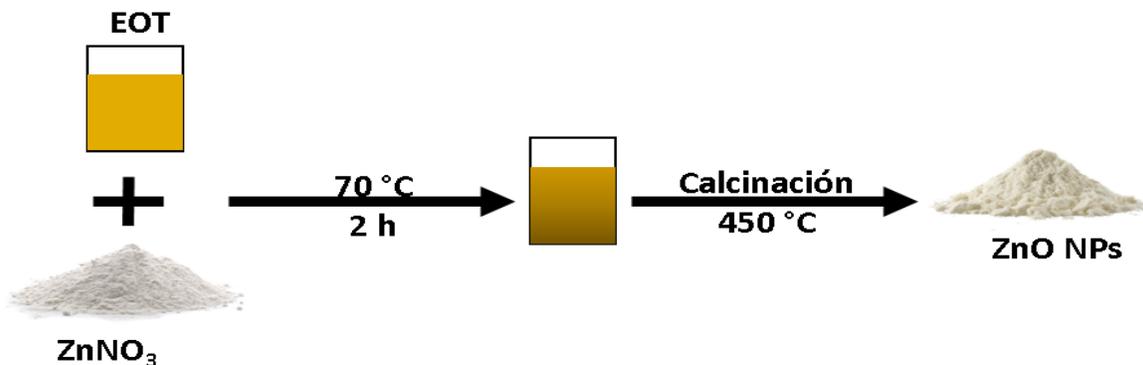


Figura 4.3. Esquema de la preparación de nanopartículas de óxido de zinc.

4.5. Preparación de nanopartículas de Ag/ZnO NPs

En un procedimiento de reducción típico, se añadieron aproximadamente 3 mL de extracto de cáscaras de naranja y 0.014 M de ZnO NPs en 30 mL de agua destilada. Posteriormente, se agregó 2.0 mM de nitrato de plata (AgNO₃) y se agitó constantemente por 120 minutos a temperatura ambiente. La mezcla cambió de un color blanco a un color café claro. La mezcla se centrifugó a 6000 rpm y se lavó con agua destilada tres veces para recuperar las Ag/ZnO NPs. El producto se secó en una estufa a una temperatura de 60°C y se recuperó para su caracterización (Figura 4.4).

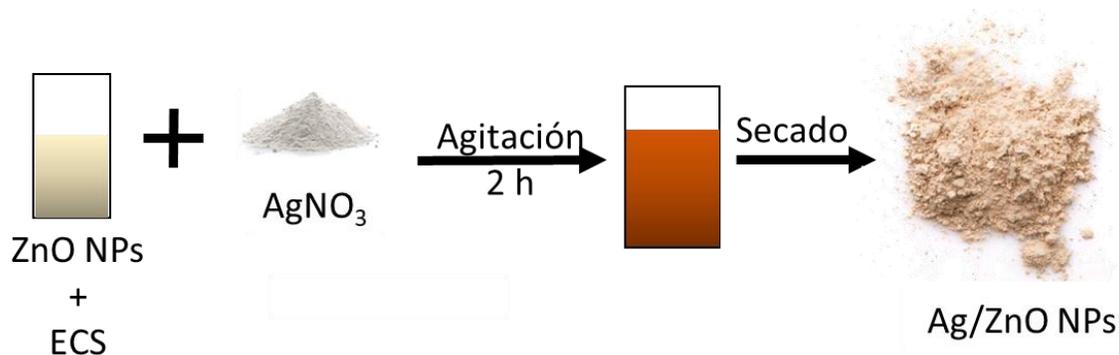


Figura 4.4. Esquema de la preparación de nanopartículas de óxido de zinc.

4.6. Preparación de ferritas

Las nanopartículas magnéticas de MFe_xO₄ se sintetizaron mediante un método solvotermal modificado (Figura 4.5). Para ello, primero se utilizaron en una cantidad estequiometría de 2:1 de cloruro disueltos en agua destilada y etilenglicol en una proporción de 1:1. Luego, se agregó 0.5 M de acetato de sodio. La disolución se llevó a un baño ultrasónico por 10

minutos. La disolución se llevó a un reactor autoclave a 180°C por 16 h. Pasado el tiempo, se recuperó el precipitado centrifugándolo a 6000 rpm y lavándolo tres veces con agua destilada. Finalmente, las nanopartículas de MFe_xO_4 se dejaron secar y se recuperaron con un imán y se prepararon para su caracterización. Se obtuvieron nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 (control), $CoFe_2O_4$, $NiFe_2O_4$ y $ZnFe_2O_4$.

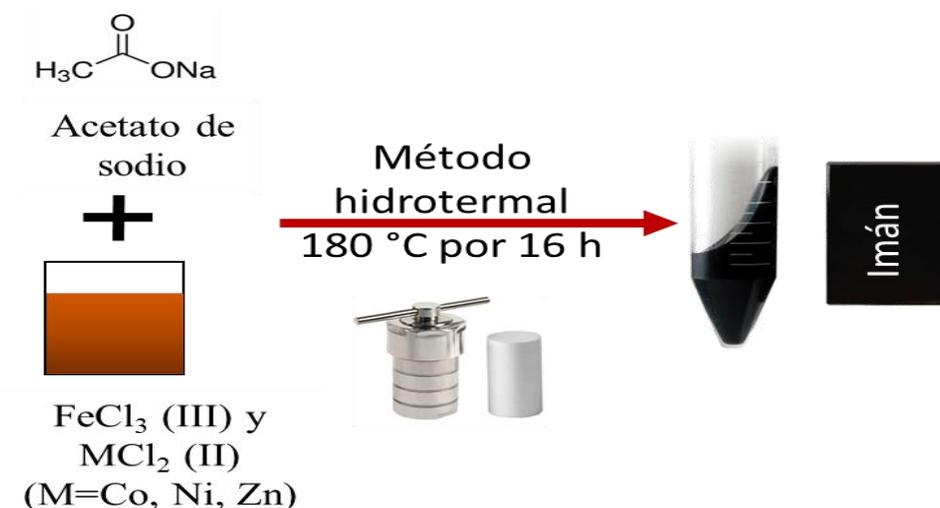


Figura 4.5. Esquema de la preparación de ferritas magnéticas.

4.7. Preparación de puntos cuánticos de carbono (CQDs)

Para la síntesis de puntos cuánticos de carbono (CQD) se añadieron en 30 mL de agua 0.03 M de etilendiamina y 0.06 M de ácido cítrico y se sonicó por 30 minutos. Luego, la dispersión se transfirió a una autoclave de acero inoxidable revestido con teflón a 180 ° C durante 5 h. El producto final fue soluble en agua, el cual se filtró 2 veces con papel filtro Whatman del No. 1 (Figura 4.6). Se obtuvieron puntos cuánticos de carbono a partir de etilendiamina (ED-CQD).



Figura 4.6. Esquema de preparación de puntos cuánticos de carbono.

4.8. Preparación de puntos cuánticos de carbono con ferritas (C@ MFe_xO₄ NPs) u óxido de zinc (C@ZnO)

Se dispersaron 100 mg de MFe_xO₄ o ZnO en 100 μL de CQDs. Se añadió 10 ml de etanol y se sonicó por 30 minutos. Se recuperó el producto con un imán (Figura 4.7). Se obtuvieron: óxido de zinc dopado con puntos cuánticos de carbono (C@ZnO), magnetita dopada de puntos cuánticos de carbono (C@Fe₃O₄), ferrita de cobalto dopada de cuánticos de carbono (C@CoFe₂O₄), ferrita de níquel dopada de cuánticos de carbono (C@NiFe₂O₄), ferrita de zinc dopada de cuánticos de carbono (C@ZnFe₂O₄).

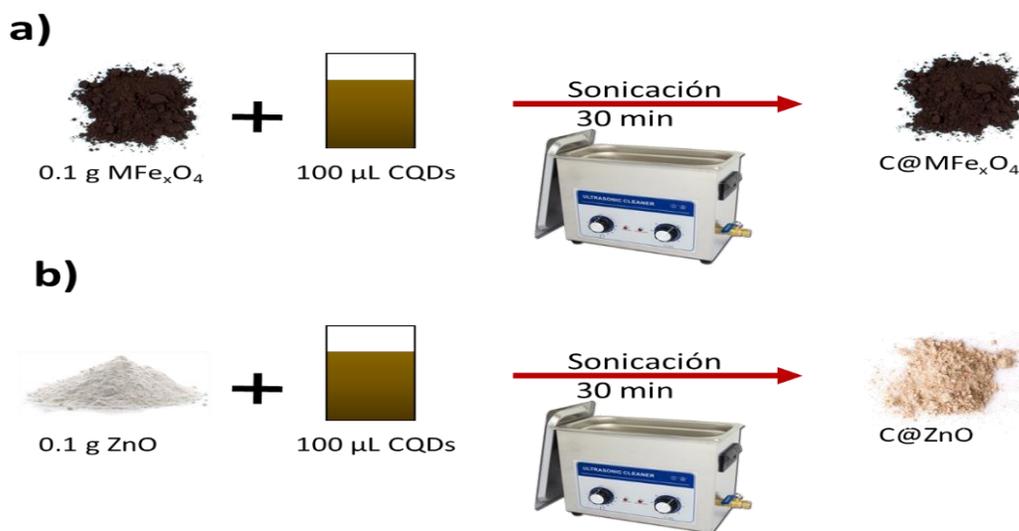


Figura 4.7. Esquema de a) MFe_xO₄ dopado con CQDs y b) ZnO dopado con CQDs.

4.9. Caracterización

Difracción de rayos X: La estructura cristalina de los nanomateriales se estudió con la técnica de difracción de rayos X (XRD). Se estimó el tamaño promedio de cristal (*D*) con la ecuación de Bebye-Scherrer (ecuación 4.1) [236]:

$$D = \frac{k \lambda}{\beta \cos \theta} \quad (4.1)$$

donde k es una constante de Scherrer con valor de 0.9, λ es la longitud de onda de los rayos X con un valor de 0.154nm, β es el ancho completo medio máximo (FWHM, por sus siglas en inglés) y θ es el ángulo de difracción en radianes.

Espectroscopia UV-Vis y de fluorescencia: Las propiedades ópticas cualitativas se investigaron con el espectrofotómetro ultravioleta visible (Lambda 25, Perkin Elmer) y un espectrofotómetro de fluorescencia (F96Pro, Drawell).

Microscopía electrónica: Las propiedades morfológicas de los nanomateriales resultantes se analizaron mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, por sus siglas en inglés). La composición química de los nanomateriales resultantes se confirmó mediante un análisis químico elemental de Espectroscopia por Dispersión de Energía de rayos X (EDS, por sus siglas en inglés).

4.10. Ensayos microbiológicos

Para las pruebas microbiológicas con los nanomateriales se recurrió a métodos de ensayo antibacteriano de antibiogramas para búsqueda de zonas de inhibición (ZOI, por sus siglas en inglés) y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC, por sus siglas en inglés) (Figura 4.8). Se adquirieron cuatro especies bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhi* de la Universidad Nacional Autónoma de México. Cada cepa bacteriana se sembró en Caldo Muller-Hinton (CMH) y se incubó durante 24 h a 37°C.

4.10.1. Zonas de inhibición por antibiogramas

Los cultivos bacterianos obtenidos se sembraron uniformemente en Agar Meller Hinton (AMH). Se aplicaron diferentes concentraciones de nanomateriales (50, 100, 200 y 400 $\mu\text{L}/\text{mL}$) en discos absorbentes de 6mm y se incubaron a 37°C durante 24 h bajo luz visible para observar el efecto sobre el crecimiento o inhibición de los microorganismos patógenos. Se utilizaron controles de extractos vegetales, así como de Ag NPs, ZnO NPs, Fe_3O_4 , y MFe_xO_4 (M= Co, Ni, Zn) como materiales comparativos.

4.10.2. Concentración mínima inhibitoria

Se determinó la MIC para los nanomateriales contra las cepas bacterianas Gram positiva y Gram negativa. Se usó el método por disolución de caldo con modificaciones. Se usaron placas de microtitulación de 96 pocillos. Se mezcló en cada pocillo 100 μL de inóculo, 100

μL de CMH y volúmenes diferentes (50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15 y 10 μL) de nanopartículas a concentraciones de 50 mg/mL para ZnO y 80 mg/mL para MFe_xO_4 . Todos se incubaron durante 24 a 37 °C. Después de la incubación, se colocó 10 μL de una solución de 10 mM de cloruro de p-iodonitrotetrazolio en cada pocillo como indicador del crecimiento celular. Al añadir el indicador, si hay crecimiento celular, el medio tendrá una coloración roja evidenciando el crecimiento celular de las bacterias de interés, mientras que, si al añadir el indicador el pocillo se mantiene incoloro, se evidencia la inhibición del crecimiento celular, permitiendo así, determinar la concentración mínima inhibitoria. Se examinó el crecimiento y se registraron los datos. Los valores de MIC se tomaron como la concentración más baja de los extractos que no mostraban crecimiento en el pocillo. El experimento se repitió dos veces para la autenticación de los datos.

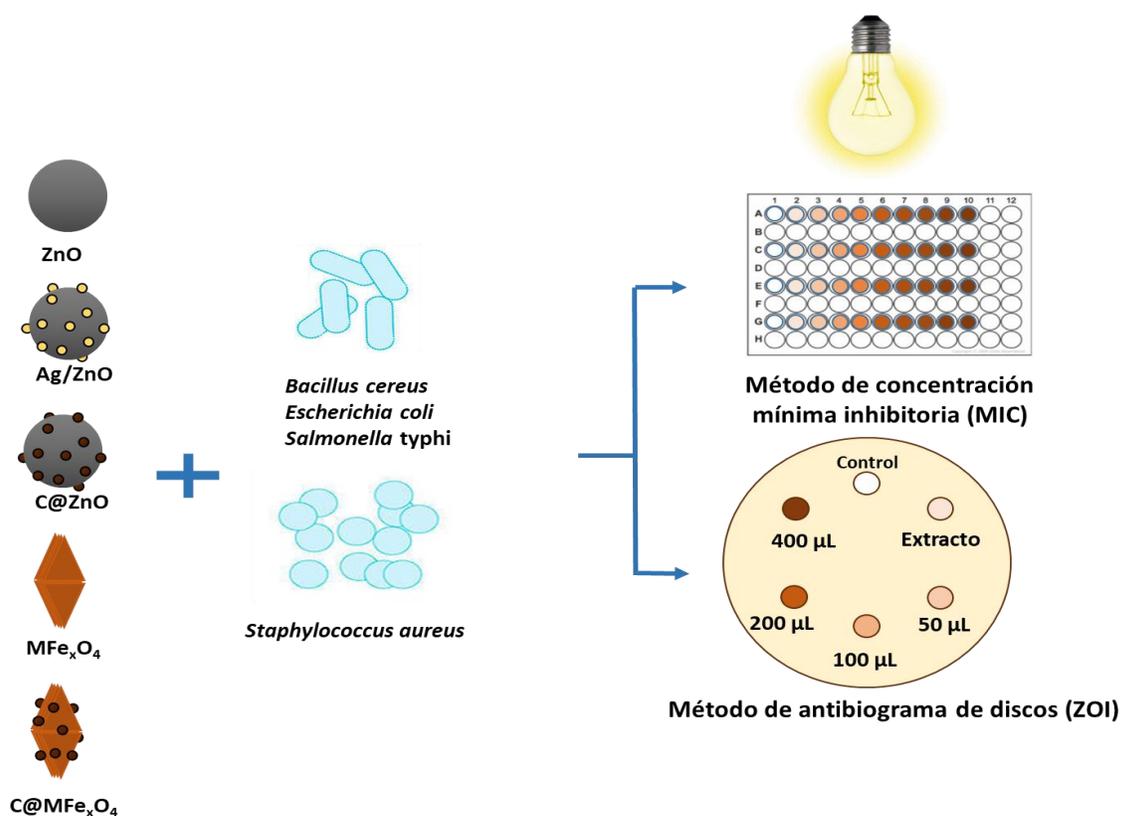


Figura 4.8. Ejemplo esquemático de la metodología para la evaluación de las propiedades antibacterianas de las bacterias de interés por los métodos de concentración mínima inhibitoria y por antibiograma de discos para la determinación de (ZOI).

4.11. Análisis económico

Se llevó a cabo un análisis de costo de los reactivos empleados en la síntesis de los distintos nanomateriales (CNMs), así como la energía eléctrica requerida para su síntesis (CEE), con esto también se evaluaron las emisiones de gases de efecto invernadero (EGI) generadas usando la calculadora de emisiones para el Registro Nacional de Emisiones actualizada a abril de 2021. Con estos criterios tomados se evalúa el coste total empleado en la síntesis de nanomateriales. En la Tabla 4.1 se muestran los criterios elegidos para la evaluación económica.

Tabla 4.1. Criterios elegidos para el análisis de costos de los materiales y energía utilizados para la síntesis de los NMs.

Criterios económicos	
CNMs	Costo de reactivos empleados en la síntesis de nanomateriales
CEE	Costo de la energía eléctrica utilizada para la elaboración de los nanomateriales
EGI	Emisiones de gases de efecto invernadero

CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Observaciones visibles

La formación de Ag NPs usando extracto de naranja de varias concentraciones (1.0 mM y 2.0 mM) se confirmó inicialmente mediante el cambio de color de las soluciones, esto debido a un cambio de resonancia del plasmón superficial (Figura 5.1.a). Se confirmó la reducción de Ag^+ a Ag^0 por el cambio de color de transparente a amarillo ámbar [237]. La concentración de 1.0 mM muestra un cambio de color más transparente, mientras que la concentración de 2.0 mM mostró un color marrón más concentrado. Las ZnO NPs obtenidas usando extracto de *Ocimum tenuiflorum* mostraron polvo fino con una ligera coloración amarillenta que puede deberse a los componentes del extracto presentes en las nanopartículas. Las MFe_xO_4 y $\text{C@MFe}_x\text{O}_4$ obtenidas mostraron un color marrón y marrón oscuro respectivamente. Los polvos de las ferritas presentan una aglomeración debido a su propiedad ferromagnética. Los CQDs sintetizados a partir de ácido cítrico y de la etilendiamina presentaron un tono amarillo claro (Figura 5.1.b), a la luz ultravioleta se le aprecia su propiedad de fluorescencia.

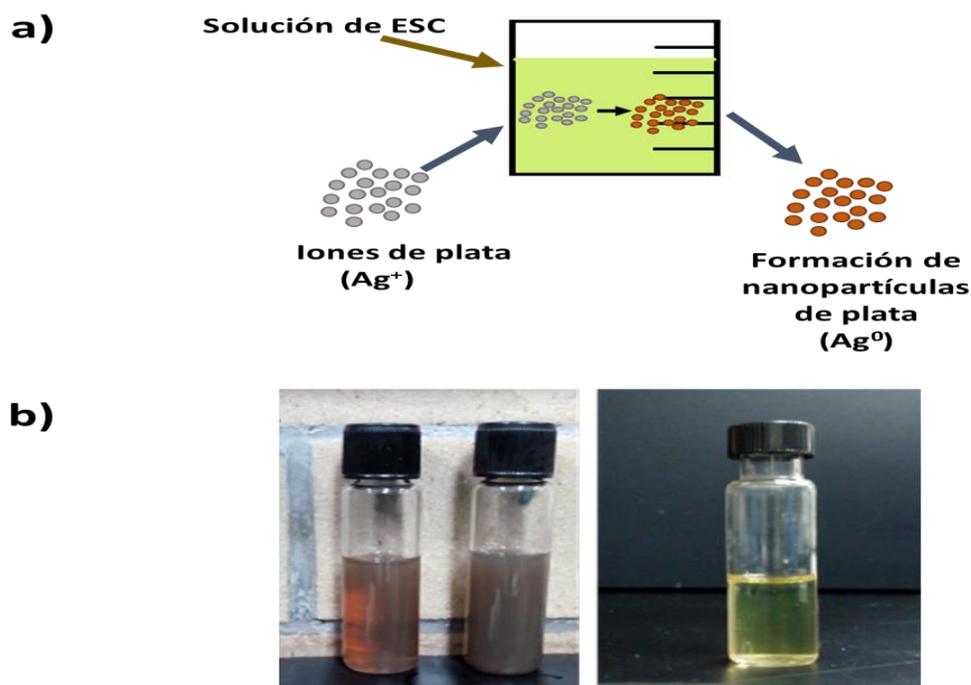


Figura 5.1. (a) Diagrama de formación de Ag NPs; b) a la izquierda, Ag NPs a concentraciones de 1.0 mM y 2.0 mM respectivamente y; a la derecha, CQD-etilendiamina.

5.2. Propiedades estructurales, difracción de rayos X (XRD)

Se obtuvieron las propiedades estructurales de los nanomateriales de ZnO, Ag/ZnO, C@ZnO, Fe₃O₄, C@Fe₃O₄, ZnFe₂O₄, C@ZnFe₂O₄, CoFe₂O₄, C@CoFe₂O₄, NiFe₂O₄, C@NiFe₂O₄ y CQDs mediante la caracterización por XRD. Se determinó el tamaño promedio de cristal mediante la ecuación de Scherrer. Se hizo una comparación en la Tabla 5.1 de los ángulos de los patrones de difracción comparados con las listas de las tablas internacionales de Difracción de Polvo (PDF, por sus siglas en inglés).

5.2.1. Óxidos de zinc

Las ZnO NPs, Ag/ZnO NPs y C@ZnO se caracterizaron por medio de XRD, obteniéndose los patrones de difracción mostrados en la Figura 5.2, así como los picos característicos del material. La posición de los picos XRD coincidieron muy bien con los valores estándar de PDF (JCPDS 36–1451) [238, 239]. Por lo que se puede concluir que las matrices de los nanomateriales preparados son altamente cristalinas. Se obtuvo que el pico dominante a $2\theta=36.130^\circ$ para el plano (101) y otros picos de baja intensidad a $2\theta= 31.66^\circ$, 34.36° , 47.436° , 56.453° , 62.767° , 66.352° , 67.836° , 68.942° , 76.257° y 83.99° que surgen de los planos cristalinos (100), (002), (101), (102), (110), (103), (200), (201) y (202) respectivamente. Se obtuvo el tamaño promedio de cristal con un valor de 10.38 nm. La posición de los picos XRD para Ag se encontraron en $2\theta=38.025^\circ$, 41.202° y 76.751° que surgen de los planos cristalinos (111), (200) y (311) respectivamente. No se percibe la señal de CQDs debido a la intensidad. El tamaño medio de cristal resultó en 11.70 nm, 12.08 nm, 22.48 nm y 7.70 nm para ZnO NPs, Ag/ZnO NPs, C@ZnO y Ag, respectivamente.

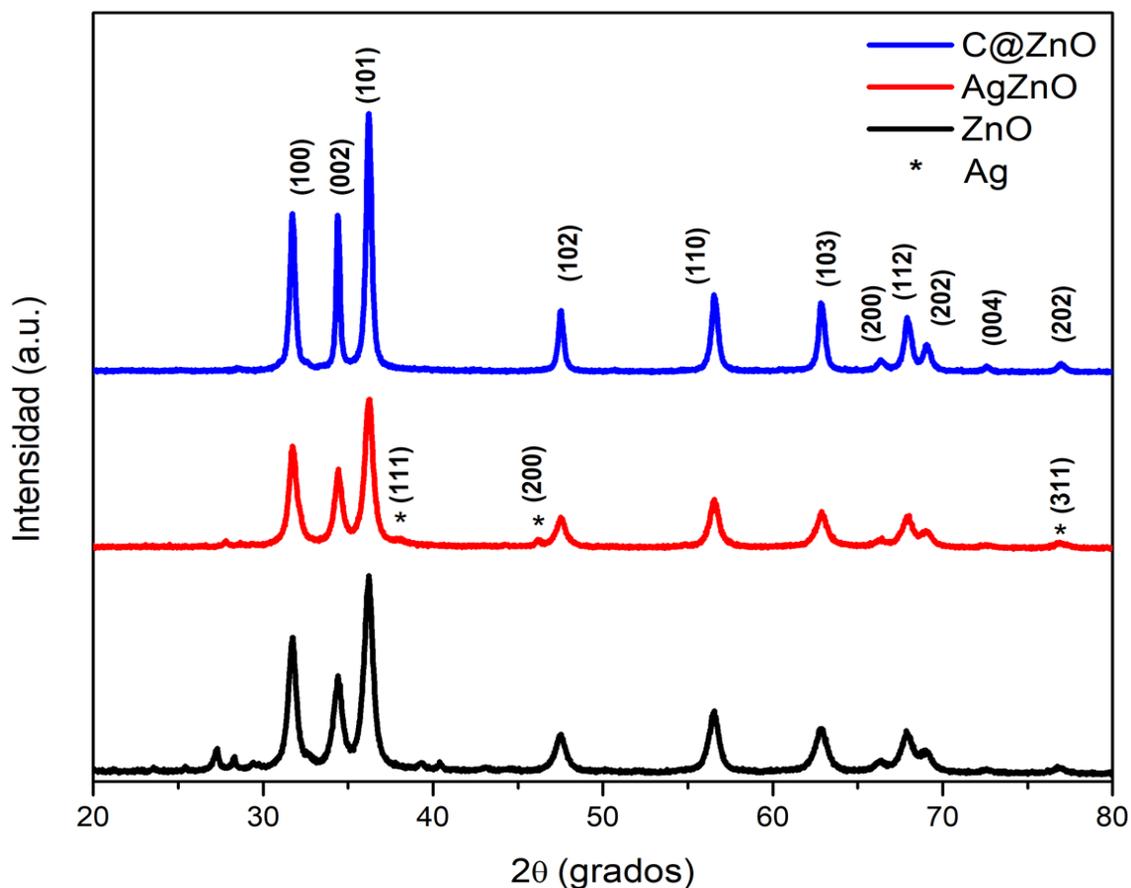


Figura 5.2. Patrón de difracción de rayos X de ZnO, Ag/ ZnO y C@ZnO.

5.2.2. Ferrita de Zinc (ZnFe_2O_4)

El patrón XRD de ZnFe_2O_4 se muestra en la Figura 5.3, así como los picos característicos del material y la orientación de sus planos cristalinos. Los principales picos de difracción de la espinela $2\theta = 29.93^\circ, 35.24^\circ, 36.85^\circ, 42.85^\circ, 53.17^\circ, 56.67^\circ, 62.19^\circ$ y 73.64° se atribuyen a los planos (220), (311), (222), (400), (422), (511), (440) y (533) [240]. C@ ZnFe_2O_4 no muestra diferencias respecto a ZnFe_2O_4 , lo que significa que CQDs se distribuyeron uniformemente. El tamaño medio de cristal resultó en 24.97 nm y 24.68 nm para ZnFe_2O_4 y C@ ZnFe_2O_4 , respectivamente.

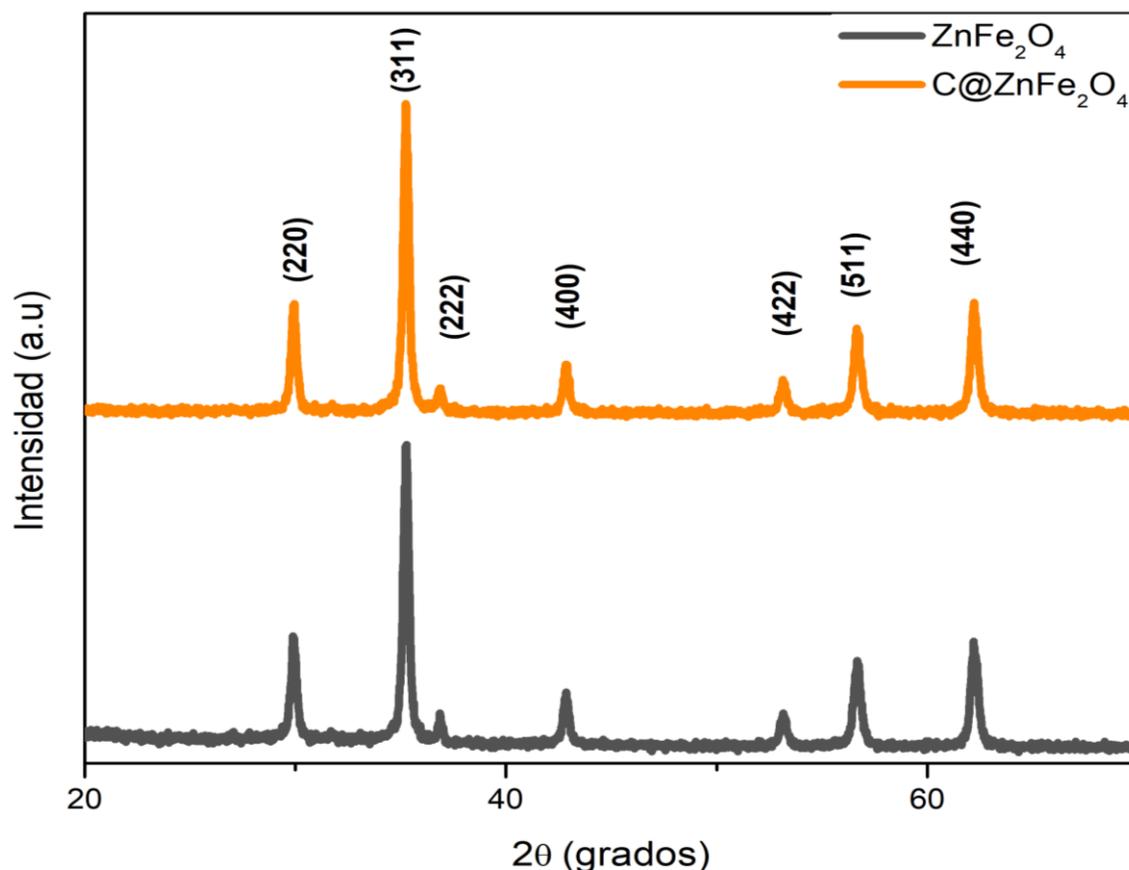


Figura 5.3. Patrón de difracción de rayos X de ZnFe_2O_4 y $\text{C@ZnFe}_2\text{O}_4$.

5.2.3. Magnetita (Fe_3O_4)

El patrón XRD de Fe_3O_4 se muestra en la Figura 5.4, se observaron los picos característicos de las nanopartículas de magnetita obtenidas, e de acuerdo con el patrón estándar para magnetita (JCPDS 19-0629), así como la orientación de sus planos cristalinos. Se obtuvo el pico dominante a $2\theta = 35.561^\circ$ correspondiente al plano (311) y otros picos de baja intensidad a $2\theta = 30.0096^\circ$, 37.943° , 43.156° , 54.008° y 57.091° que corresponden a los planos (220), (222), (400), (422) y (511) respectivamente, además, en el patrón de difracción aparecen dos picos correspondientes a la hematita (JCPDS 33-0664), los cuales están presentes en $2\theta = 33.138^\circ$ y 49.460° con los planos asignados en (104) y (024) respectivamente, lo que sugiere que en la síntesis formó dos estructuras provenientes del óxido de hierro (Fe_3O_4 y Fe_2O_3) [241]. El tamaño medio de cristal resultó en 20.22 nm y 21.02 nm para Fe_3O_4 y $\text{C@Fe}_3\text{O}_4$, respectivamente.

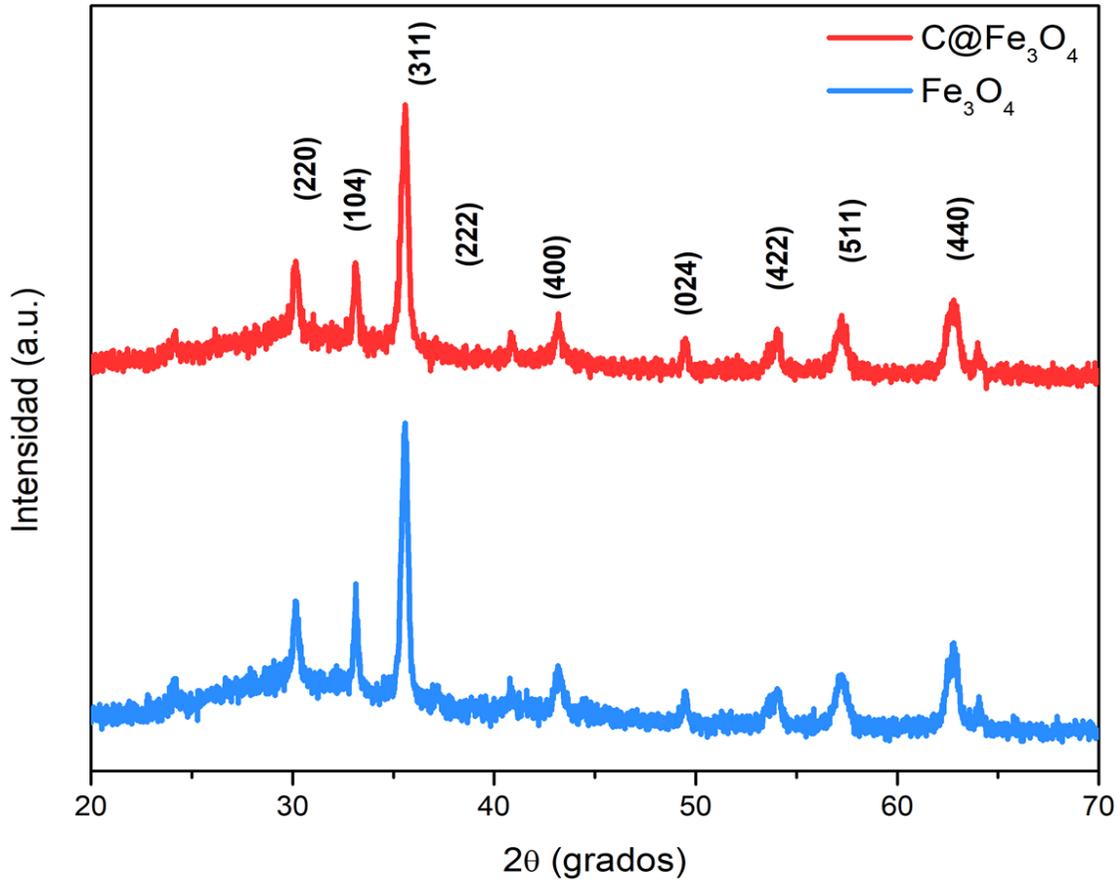


Figura 5.4. Patrón de difracción de rayos X de Fe_3O_4 y $\text{C@Fe}_3\text{O}_4$.

5.2.4. Ferrita de cobalto (CoFe_2O_4)

Para CoFe_2O_4 , se obtuvieron los planos XRD mostrados en la Figura 5.5, así como los picos característicos del material y la orientación de sus planos cristalinos. El patrón XRD sugiere que todos los picos indexados tienen una estructura espinela cúbica de óxido de cobalto (CoFe_2O_4) (tarjeta JCPDS No. 5-667) con fina cristalinidad [242]. Estas reflexiones pertenecen a la estructura cúbica tipo FCC, con esto, el análisis del patrón XRD confirma la estructura de espinela cúbica monofásica de las muestras preparadas [243]. Se presentan ligeras impurezas debido a la aparición adicional de picos cerca de los planos (400) y (422), esto, según la literatura, corresponde a los picos de la hematita, en $2\theta = 33.16^\circ$ y 49.42° con los planos (104) y (024) respectivamente. Se obtuvo el pico dominante a $2\theta = 35.65^\circ$ para el plano (311) y otros picos de baja intensidad a $2\theta = 30.26^\circ$, 35.65° , 43.35° , 53.81° , 57.37° , 63.01° y 74.62° que surgen de los planos cristalinos (220), (311), (222), (400), (422), (511),

(400) y (533) respectivamente. Se obtuvo el tamaño promedio de cristal con un valor de 13.97 nm, confirmando la naturaleza cristalina de CoFe_2O_4 .

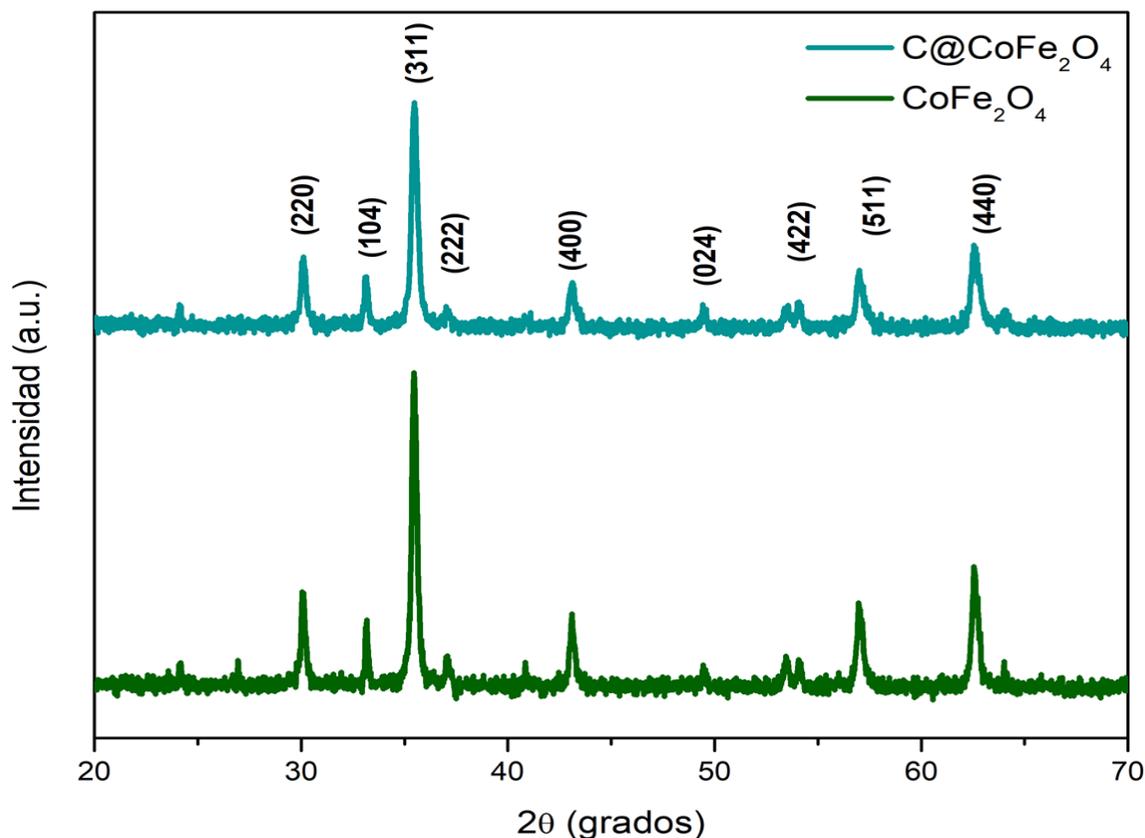


Figura 5.5. Patrón de difracción de rayos X de CoFe_2O_4 y $\text{C@CoFe}_2\text{O}_4$.

5.2.5. Ferrita de níquel (NiFe_2O_4)

El patrón XRD de NiFe_2O_4 se muestra en la Figura 5.6, así como los picos característicos del material y la orientación de sus planos cristalinos. Los planos indican que hay una estructura de cristal de espinela cúbica inversa de ferrita niquelada y coincide con las puntas estándar que se muestran en J CPDS: 74-2081[244]. Se obtuvo que el pico dominante a $2\theta = 35.56^\circ$ para el plano (311) y otros picos de baja intensidad a $2\theta = 30.2^\circ$, 35.57° , 43.24° , 53.69° , 57.18° , 62.79° que surgen de los planos cristalinos (220), (222), (400), (422), (511) y (400) respectivamente. Se obtuvo el tamaño promedio de cristal con un valor de 13.43 y 13.39 nm para NiFe_2O_4 y $\text{C@NiFe}_2\text{O}_4$, respectivamente.

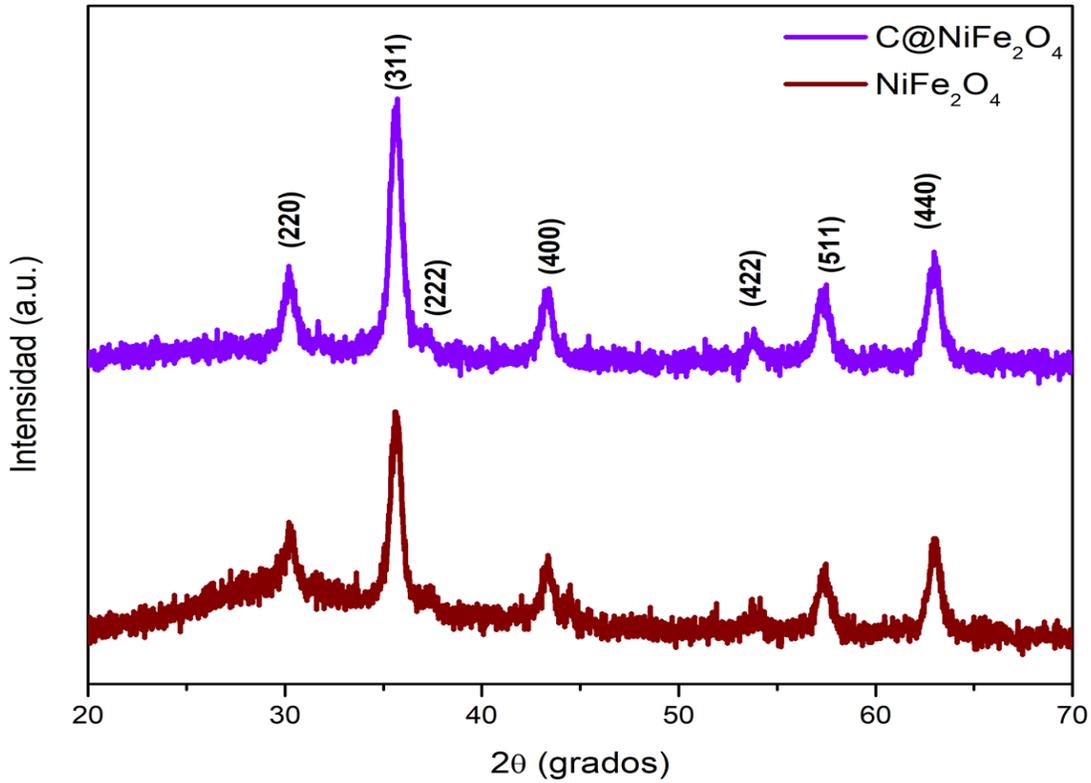


Figura 5.6. Patrón de difracción de rayos X de $NiFe_2O_4$ y $C@NiFe_2O_4$.

5.2.6. Puntos cuánticos de carbono (CQDs)

El patrón de difracción para CQDs (Figura 5.7) muestra un pico ancho intenso característico a $2\theta = 19.72^\circ$ y un pico débil a $2\theta = 41.483^\circ$ que son asignados a (002) y (101) respectivamente. Estos picos característicos corresponden a patrones de difracción a carbono grafitico [245].

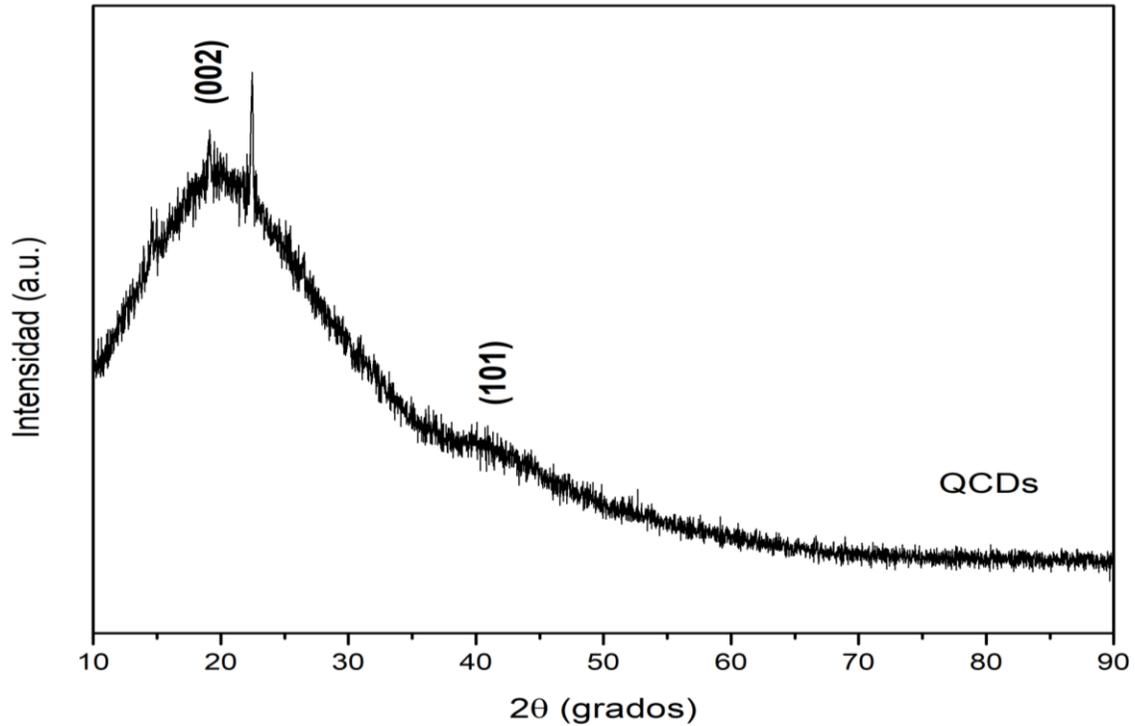


Figura 5.7. Patrón de difracción de rayos X de CQDs.

Tabla 5.1. Intensidad de los picos para cada plano.

Pico	Pico de difracción 2θ [°]					
	ZnO	$\Delta 2\theta$	Ag/ZnO	$\Delta 2\theta$	C@ZnO	$\Delta 2\theta$
(100)	31.675	0.095	31.754	0.016	31.691	0.079
(002)	34.363	0.059	34.361	0.061	34.325	0.097
(101)	36.164	0.089	36.218	0.035	36.187	0.066
(102)	47.456	0.083	47.495	0.044	47.538	0.001
(110)	56.435	0.168	56.541	0.062	56.513	0.090
(103)	62.783	0.081	62.821	0.043	62.869	0.005
(200)	66.322	0.058	66.354	0.026	66.35	0.030
(112)	67.865	0.098	67.887	0.076	67.857	0.106
(201)	69.009	0.091	69.05	0.05	69.051	0.049
(004)	72.473	0.089	72.442	0.12	72.532	0.030
(202)	76.883	0.072	76.856	0.099	76.932	0.023

Pico	Pico de difracción 2θ [°]							
	ZnFe ₂ O ₄	$\Delta 2\theta$	Fe ₃ O ₄	$\Delta 2\theta$	CoFe ₂ O ₄	$\Delta 2\theta$	NiFe ₂ O ₄	$\Delta 2\theta$
(220)	29.93	0.045	30.111	0.028	30.244	0.074	30.284	0.114
(331)	35.24	0.022	35.781	0.409	35.683	0.917	35.544	1.056
(222)	36.85	0.049	37.943	0.836	37.324	1.636	37.205	1.755
(400)	42.85	0.035	43.156	0.098	43.316	0.316	43.296	0.296
(422)	53.17	0.095	54.008	0.537	53.896	0.496	53.589	0.189
(511)	56.67	0.083	57.091	0.066	57.357	0.217	57.317	0.177
(440)	62.19	0.014	62.806	0.244	63.033	0.243	62.776	0.014
(533)	73.64	0.255	-	-	74.701	0.601	74.444	0.344

5.3. Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Se empleó el microscopio electrónico de barrido (SEM) con electrones secundarios para identificar la morfología de los distintos nanomateriales sintetizados. Para complementar la técnica se llevó a cabo, un análisis químico elemental de los nanomateriales sintetizados (Tabla 5.2) por Espectroscopia por Dispersión de Energía de rayos X (EDS).

5.3.1. Nanopartículas de plata (Ag NPs)

Para Ag, se observa en las Figuras 5.8i y 5.8ii, en aumentos de 35000x y 13000x respectivamente, formas cuasiesféricas, prevaleciendo también formas irregulares, entre ellas algunas debido a la aglomeración de partículas que puede deberse a la presencia de grupos funcionales provenientes de la síntesis a partir de los componentes orgánicos de la cáscara de naranja. Se complementó el análisis con la técnica de análisis químico elemental (Tabla 5.2) por EDS, obteniéndose así, el porcentaje de Ag NPs, siendo que el material se conformó por un 100% de plata en porcentaje en peso.

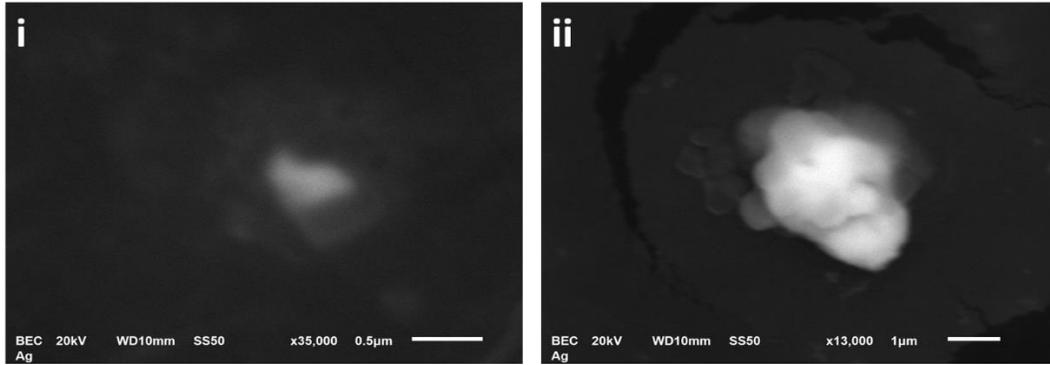


Figura 5.8. Imágenes obtenidas por SEM, correspondientes a la morfología de las Ag NPs.

5.3.2. Nanopartículas de óxido de zinc (ZnO NPs)

Se analizó la morfología de óxido de zinc (ZnO), óxido de zinc dopado con plata (Ag/ZnO) y óxido de zinc dopado con puntos cuánticos de carbono (C@ZnO). Para ZnO (Figura 5.9ii), se observan a un aumento de 9000x, formas esféricas y porosas en aglomerados, lo cual se aprecia a un aumento de 20000x en la figura 5.9i, que muestra los aglomerados de ZnO en estructuras poco dispersas. Para Ag/ZnO (Figura 5.9iii), se observan a un aumento de 13000x, formas esféricas y porosas en aglomerados correspondientes al óxido de zinc, por otra parte, se aprecian formas esféricas más claras en el aglomerado, lo que corresponde a las nanopartículas de plata, sin embargo, no se aprecia una distribución uniforme, y debido al aumento, no es posible una mejor apreciación de este dopaje, sin embargo, en la figura 5.9iv se aprecia bajo aumento de 6500x, se aprecia de mejor manera la morfología porosa de las ZnO, ya que en la superficie de los aglomerados se observan rugosidades y cavidad, además, también es posible observar puntos claros sobre la superficie de las NPs, que corresponden a las Ag NPs. Para C@ZnO, se observan en las Figuras 5.9v y Figura 5.9vi, formas irregulares y porosas en estructuras aglomeradas como predominantes, sin embargo, es posible observar formas esféricas y cuasiesféricas. Debido al aumento no es posible observar de forma más clara su morfología, además de su dopado con puntos cuánticos de carbono.

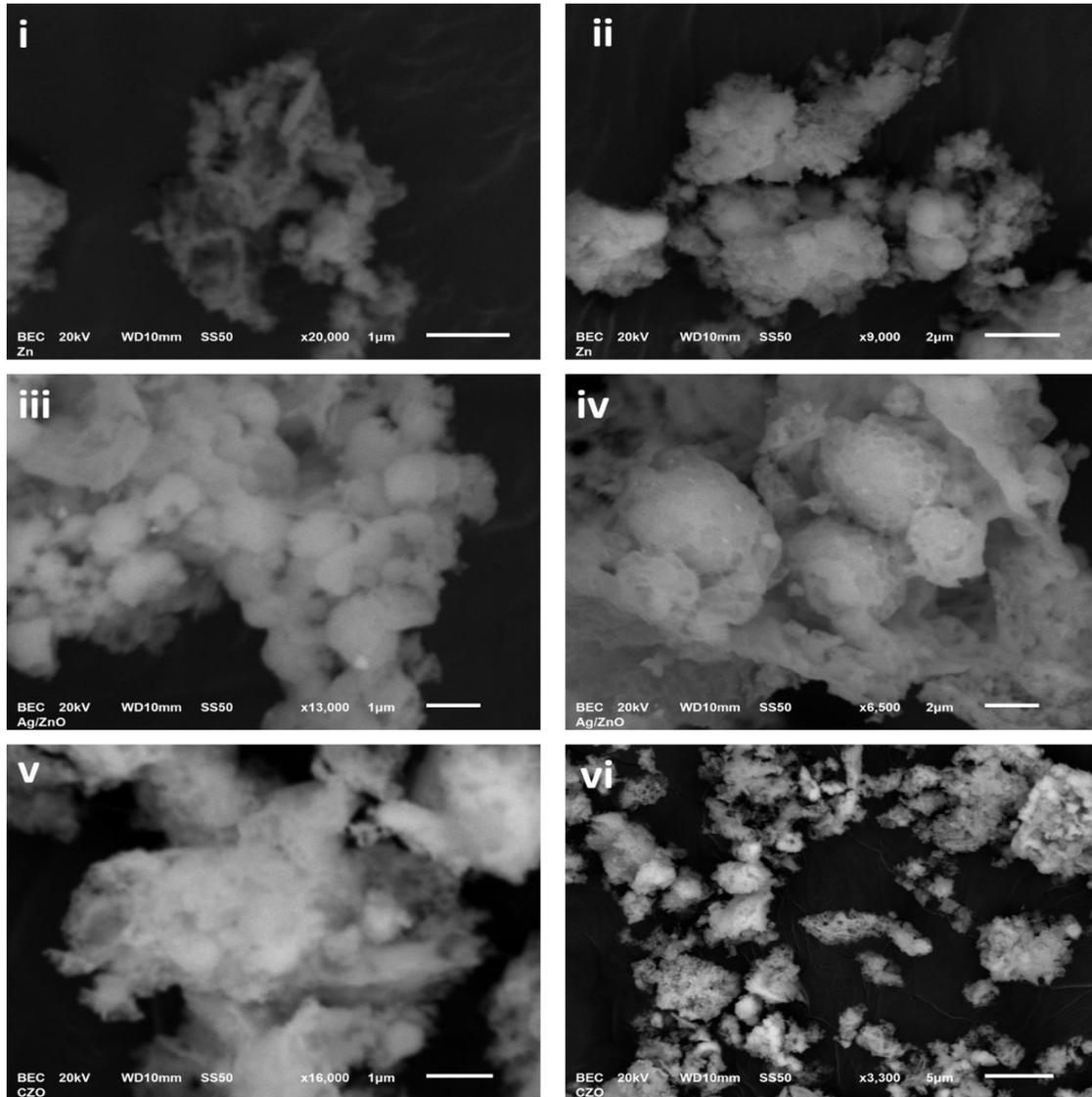


Figura 5.9. Imágenes obtenidas por SEM, correspondientes a la morfología de, correspondientes a la morfología de (i y ii) ZnO NPs, (iii y iv) Ag/ZnO y (v y vi) C@ZnO.

5.3.3. Nanopartículas de ferrita de zinc ($ZnFe_2O_4$)

Para $ZnFe_2O_4$, a un aumento de 15000x (Figura 5.10i), se observan a esta ampliación, partículas aglomeradas cuyo tamaño y forma no se alcanza a visualizar claramente; para la figura 5.10ii a un aumento de 30000x, se aprecia un acercamiento de las estructuras, donde se observan formas esféricas aglomeradas. $C@ZnFe_2O_4$, por otra parte, en la Figura 5.10iii a un aumento de 25000x se observan formas esféricas y cuasiesféricas aglomeradas en una estructura más grande, en cambio, en la Figura 5.10iv, a un aumento de

17000x, se observan del mismo modo, formas esféricas y aglomeradas, pero con una mayor dispersión en comparación. No se aprecia la distribución de CQDs en $C@ZnFe_2O_4$, debido a su tamaño. La dispersión de los elementos se llevó a cabo con el análisis por EDS.

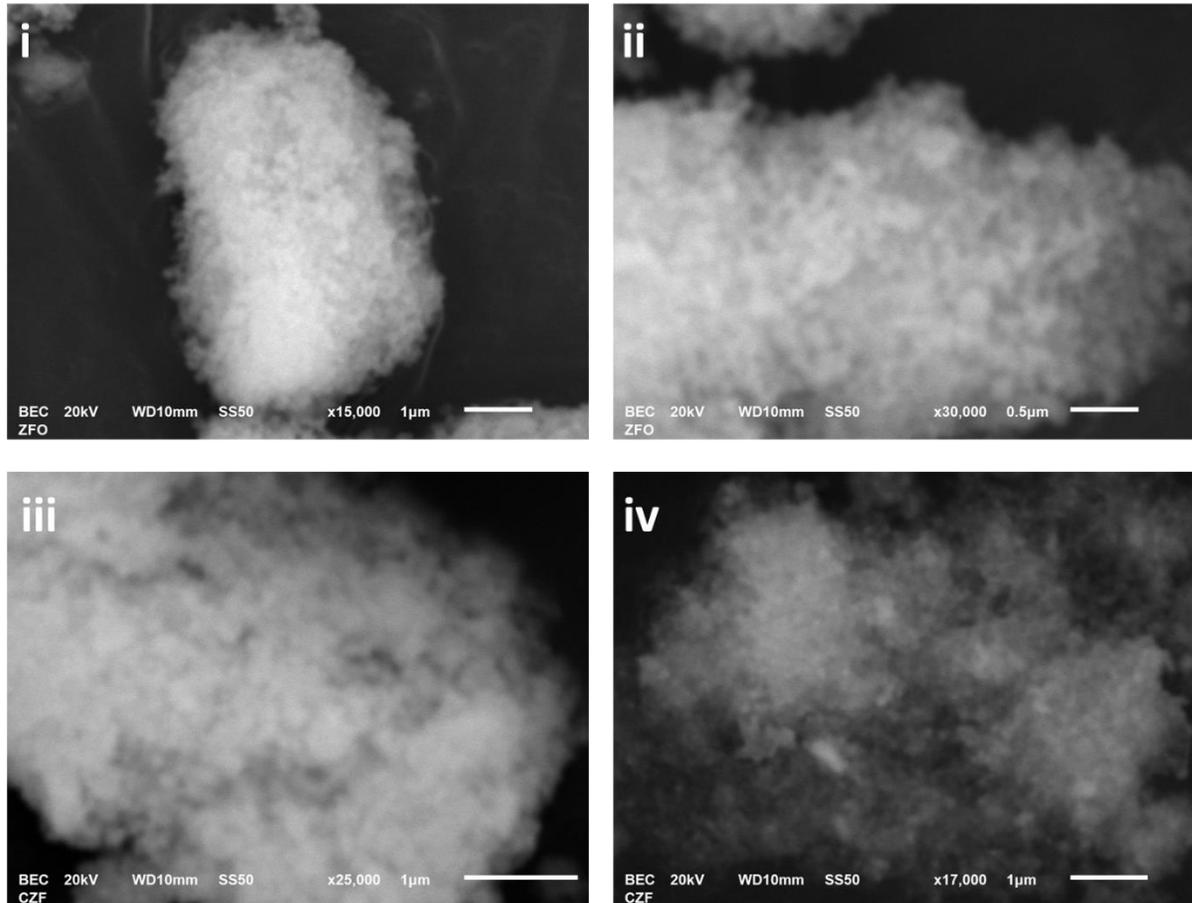


Figura 5.10. Imágenes obtenidas por SEM, correspondientes a (i y ii) $ZnFe_2O_4$ y (iii y iv) $C@ZnFe_2O_4$.

5.3.4. Nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4)

Para Fe_3O_4 , en la Figura 5.11i, a un aumento de 20000x, se observan formas esféricas y aglomeradas, debido a sus propiedades paramagnéticas, en cambio en la Figura 5.11ii, a un aumento de 6500x, se observan formas esféricas de diferentes tamaños formando cúmulos. Para $C@Fe_3O_4$, en la Figura 5.11iii, a un aumento de 12000x, se observa del mismo modo, formas esféricas y aglomeradas, pero con una mayor dispersión en comparación a $ZnFe_2O_4$; en la Figura 5.11iv se observa con mayor claridad, la distribución de las NPs esféricas de distintos tamaños a lo largo de la estructura aglomerada. No se aprecia la distribución de

CQDs en $C@Fe_3O_4$, debido a su tamaño. La dispersión de los elementos se llevó a cabo con el análisis por EDS.

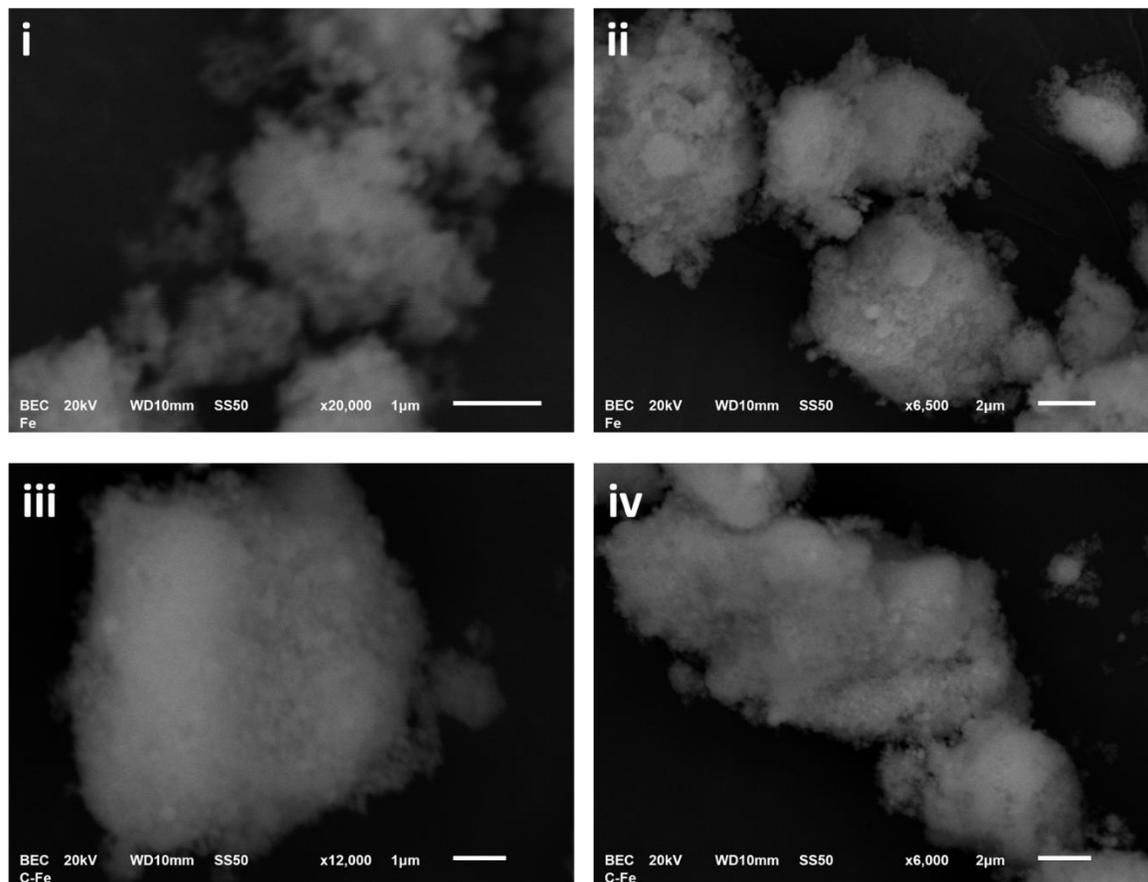


Figura 5.11. Imágenes obtenidas por SEM, correspondientes a (i y ii) Fe_3O_4 y (iii y iv) $C@Fe_3O_4$.

5.3.5. Nanopartículas de ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$)

Para $CoFe_2O_4$, a un aumento de 27000x y 30000x (Figuras 5.12i y 5.12ii, respectivamente), se observan formas esféricas y aglomeradas, estas a la vez, se encuentran dispersas en estructuras porosas, debido a sus propiedades paramagnéticas. Para $C@CoFe_2O_4$, en un aumento de 9000x (Figuras 5.12iii), se aprecian formas esféricas dispersas uniformemente en una estructura más grande y a un aumento de 18000x (Figuras 5.12iv), es observa del mismo modo, formas esféricas y aglomeradas. No se aprecia la distribución de CQDs en $C@CoFe_2O_4$, debido a su tamaño. La dispersión de los elementos se llevó a cabo con el análisis por EDS.

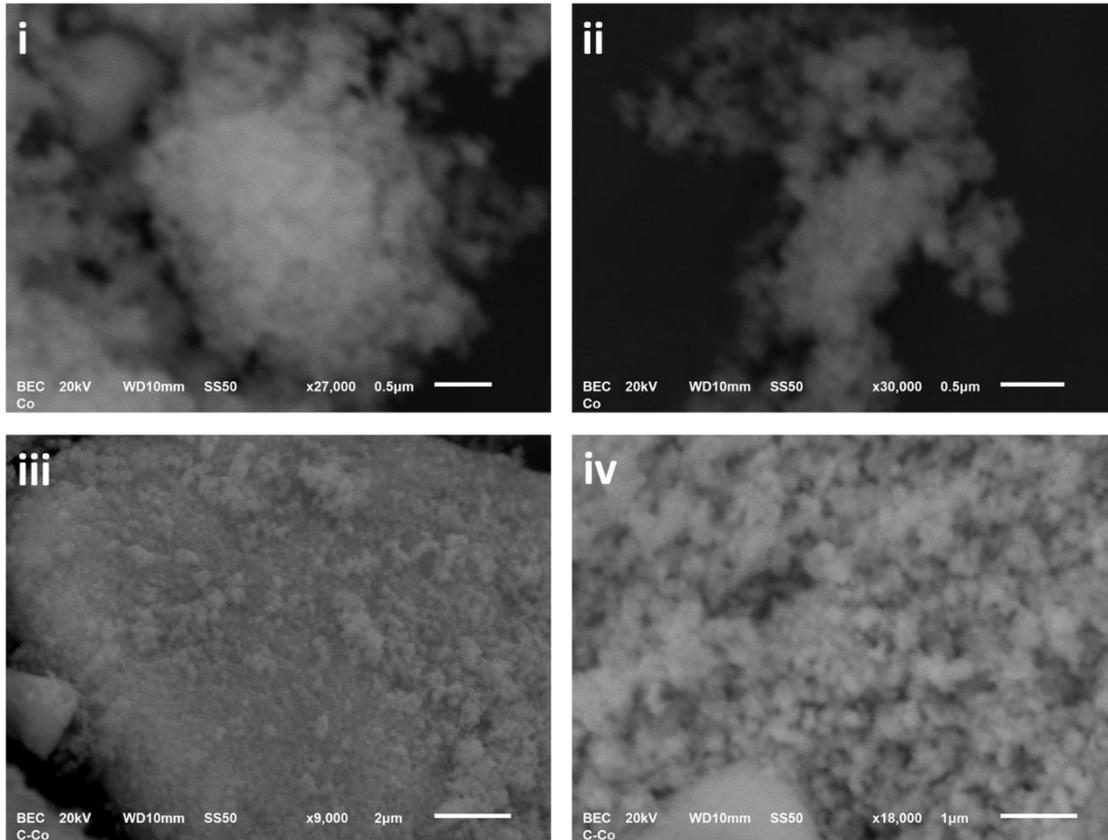


Figura 5.12. Imágenes obtenidas por SEM, correspondientes a (i y ii) CoFe_2O_4 y (iii y iv) $\text{C@CoFe}_2\text{O}_4$.

5.3.6. Nanopartículas de ferrita de níquel (NiFe_2O_4)

Para NiFe_2O_4 , a un aumento de 25000x (Figuras 5.13i y 5.13ii), se observan formas esféricas y cuasiesféricas, además de una aglomeración entre ellas; estas a la vez, se encuentran dispersas en estructuras porosas de mayor tamaño. Para $\text{C@NiFe}_2\text{O}_4$, en la Figura 5.13iii, a un aumento de 14000x, se observan del mismo modo, formas esféricas y una mayor aglomeración, sin embargo, se observan también algunos puntos más claros indicando elementos o moléculas más pesadas al resto de las NPs, por lo que podría estar contaminado; para la Figura 5.13iv se observa una mejor distribución en las NPs, sin embargo, la definición solo permite ver una forma rugosa sobre la estructura observada. No se aprecia la distribución de CQDs en $\text{C@CoFe}_2\text{O}_4$, debido a su tamaño. La dispersión de los elementos se llevó a cabo con el análisis por EDS.

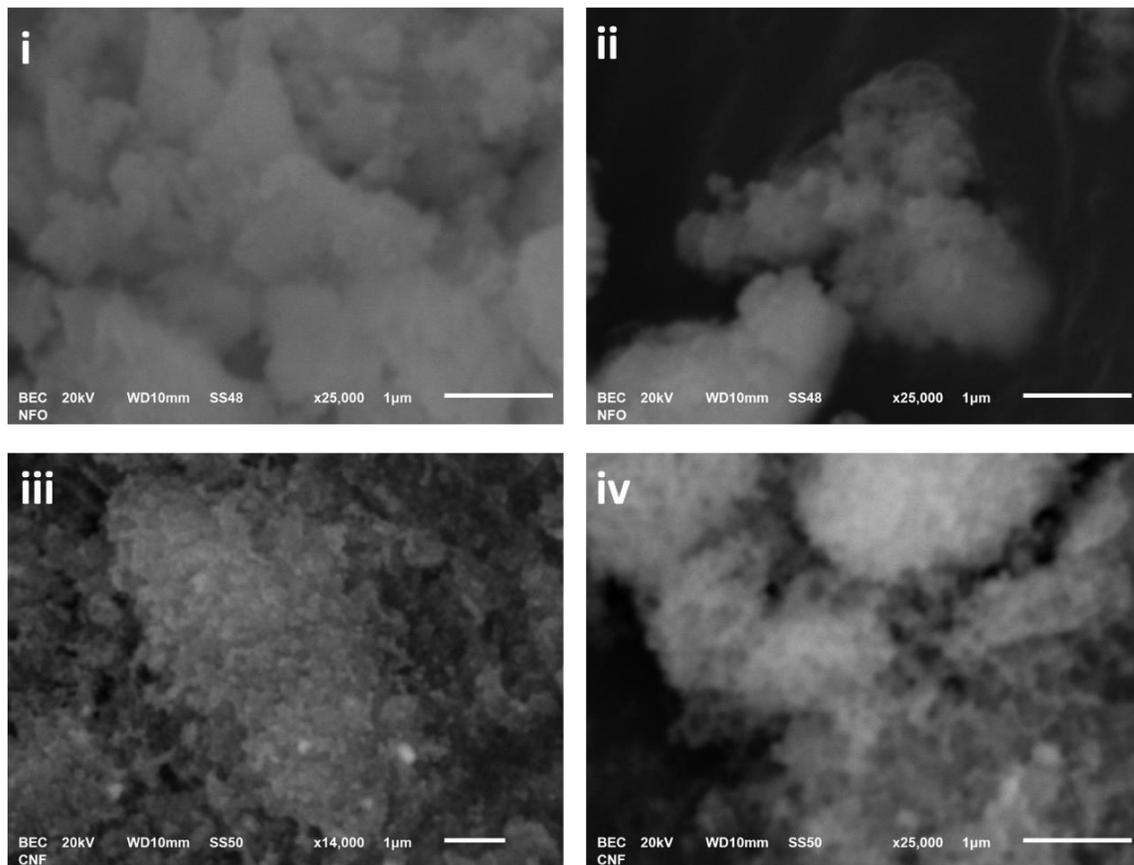


Figura 5.13. Imágenes obtenidas por SEM, correspondientes a (i y ii) NiFe_2O_4 y (iii y iv) $\text{C@NiFe}_2\text{O}_4$.

5.3.7. Puntos cuánticos de carbono (CQDs)

Para CQDs, en la Figura 5.14i, se observa a bajo aumento (5000x) formas esféricas uniformes aisladas de tamaño microscópico. Sin embargo, en la Figura 5.14ii, se observan formas irregulares y amorfas. Se complementó el análisis con la técnica de análisis químico elemental (Tabla 5.2) EDS, obteniéndose así, nanopartículas en estado puro, conformándose de carbono en un 100 % en peso.

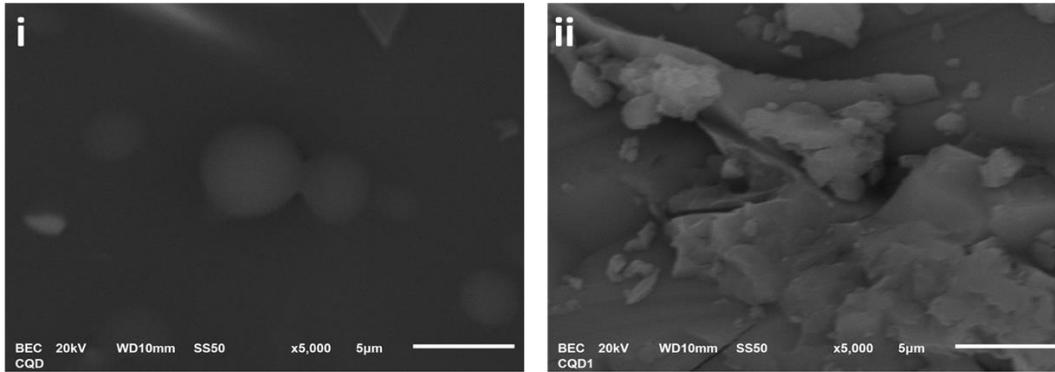


Figura 5.14. Imágenes obtenidas por SEM, correspondientes a CQDs.

Tabla 5.2. Análisis químico elemental de NPs por EDS

NPs	Peso elemental (%)						
	C	O	Fe	Co	Ni	Zn	Ag
Ag	-	-	-	-	-	-	100.00
ZnO	-	37.61	-	-	-	62.39	-
Ag/ZnO	-	24.34	-	-	-	72.53	3.13
C@ZnO	1.60	36.08	-	-	-	66.19	-
CQD	69.88	30.12	-	-	-	-	-
Fe ₃ O ₄	-	42.15	54.34	-	-	3.51	-
CoFe ₂ O ₄	-	36.42	44.69	18.89	-	-	-
NiFe ₂ O ₄	-	31.19	45.40	-	23.42	-	-
ZnFe ₂ O ₄	-	24.45	48.16	-	-	27.40	-
C@Fe ₃ O ₄	21.51	25.79	49.44	-	-	3.26	-
C@CoFe ₂ O ₄	19.70	18.23	44.06	18.01	-	-	-
C@NiFe ₂ O ₄	8.90	24.40	43.70	-	22.90	-	-
C@ZnFe ₂ O ₄	17.90	16.20	44.30	-	-	21.20	-

5.4. Propiedades ópticas

Se usó espectroscopia UV-Vis de líquidos y sólidos. Se obtuvieron los espectrogramas de los extractos de naranja y albahaca, así como los espectrogramas de Ag NPs y CQDs. Además, se calculó la banda prohibida de los óxidos metálicos a partir de los espectros de absorción extrapolándolos a gráficos de Tauc.

5.4.1. Extractos vegetales

El uso de la cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) para la síntesis de Ag NPs se usó debido a sus componentes fitoquímicos, principalmente por el Linalool, usado en reacciones para reducir metales y obtener soluciones coloidales. El espectro de solución incolora, presentó bandas nítidas a 320 nm para linalool [246]. En 280 nm se presenta D-limoneno, otro componente presente en *Citrus sinensis* [247]. El espectro del extracto de *Citrus sinensis* (ECS) UV-Vis se puede observar en la Figura 5.15a. Entre los vegetales utilizados para sintetizar nanopartículas, las hojas de varias plantas contienen componentes fitoquímicos que reaccionan con componentes químicos a la hora de sintetizar. Las hojas de albahaca (*Ocimum tenuiflorum*) son utilizadas principalmente como planta de ornamento y como especia en gastronomía. Los componentes principales que se encuentran en sus hojas se midieron por espectroscopia de UV-Vis. Se encontraron: β -cariofileno cerca de 200 nm [248], metil eugenol en 280 nm [249] y alcanfor cerca de 340 nm [250]. El espectro del extracto de *Ocimum tenuiflorum* (EOT) UV-Vis se puede observar en la Figura 5.15b.

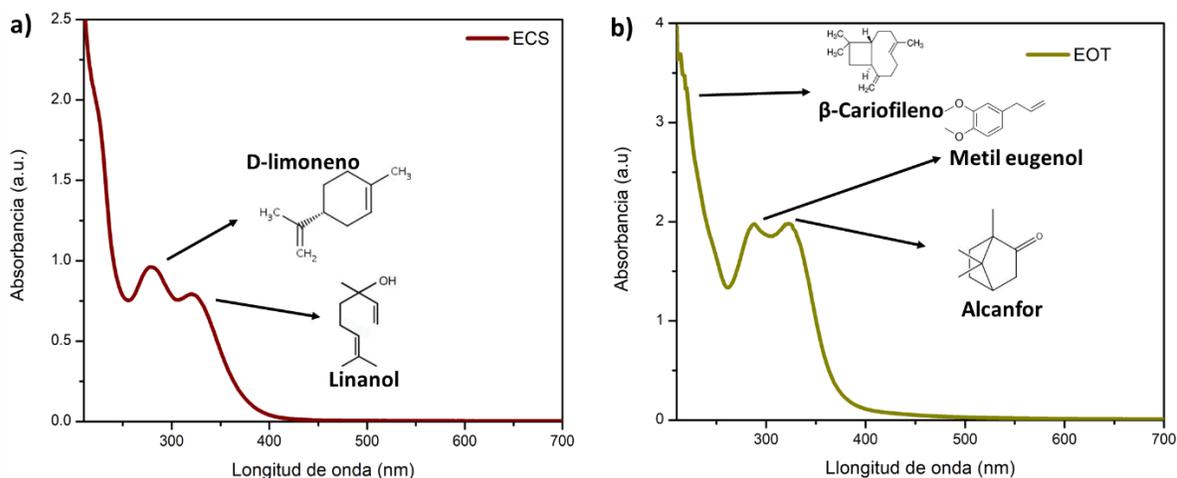


Figura 5.15. Se muestran espectrograma de los extractos vegetales de a) *Citrus sinensis* (ECS) y b) *Ocimum tenuiflorum* (EOT)

5.4.2. Nanopartículas de plata

Las nanopartículas de plata (Ag NPs) se midieron en el rango de 200-700 nm en espectroscopía UV-Vis. El espectro de absorción del extracto de cáscara de naranja y las Ag NPs sintetizadas se muestran en la Figura 5.16a observando la banda en el rango visible en la longitud de onda de 435 nm originado por el efecto de plasmón de Ag^0 conforme la concentración aumentó. El resultado del espectro mostró la alta concentración de 2 mM del extracto demostrando que efectivamente genera Ag NPs (Figura 5.16b). Se hizo un seguimiento de la formación de Ag NPs a 120 minutos, a partir de la reducción de la sal de plata, dando un pico en cerca de 450 y mostrándose, además, los componentes principales de, por la formación de Ag NPs, el incremento de concentración para los componentes de la cáscara de naranja (Figura 5.16c).

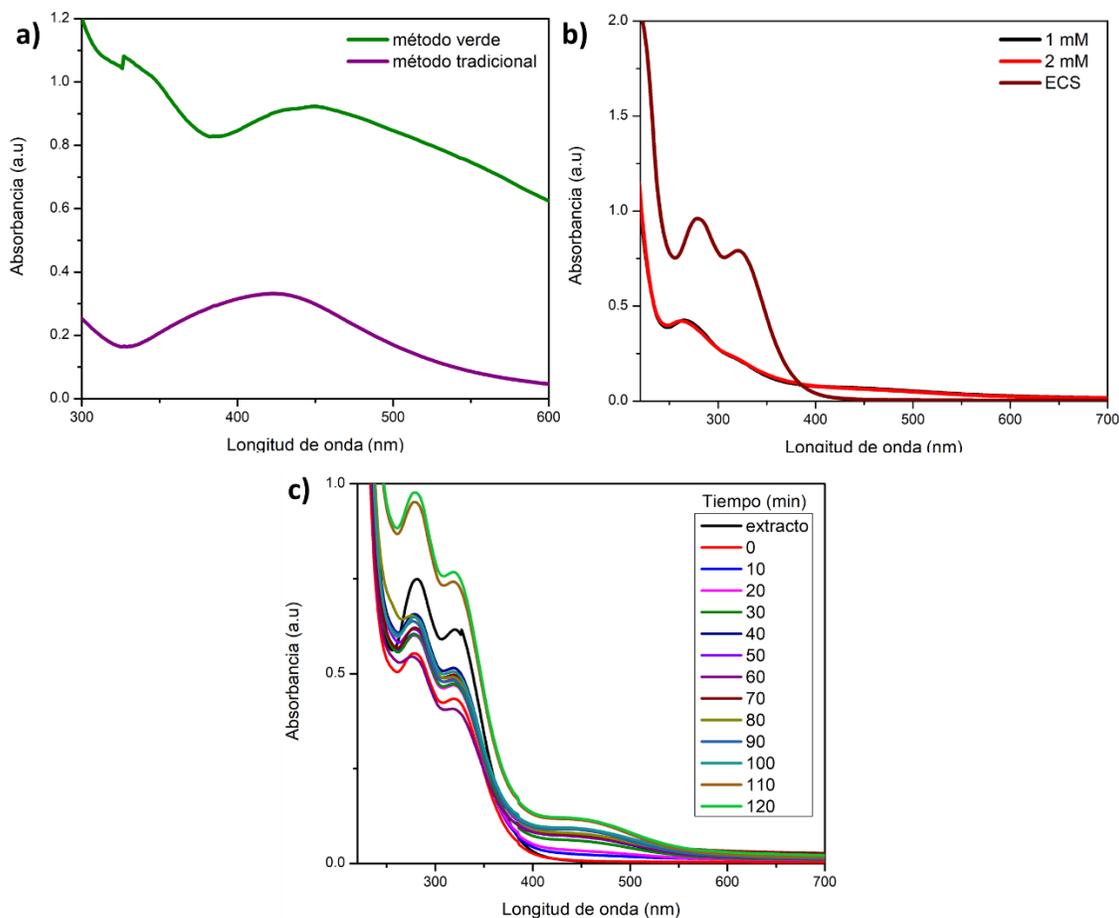


Figura 5.16. a) Comparación de síntesis de Ag NPs a partir de métodos tradicionales y métodos verdes; b) Ag NPs a diferentes concentraciones en un espectrograma de UV-Vis; c) Formación de Ag NPs a 120 minutos.

5.4.3. Puntos cuánticos de carbono

Se obtuvieron puntos cuánticos de carbono (CQDs) utilizando ácido cítrico y agregando etilendiamina (ED) como una fuente de nitrógeno, por una síntesis solvotermal, con propiedades fluorescentes. Se obtuvo el espectro de absorción atómica, donde se observaron las bandas absorción en 360 nm que se atribuyen a la transición $\pi-\pi^*$ del punto de carbono (Figura 5.17.a) [251]. En un espectrómetro de fluorescencia F96Pro de Drawell, con un filtro de 310 nm, se obtuvo el espectro de fluorescencia de lo CQDs y se observó la emisión de la muestra excitada a 430 nm (Figura 5.17.b). Una emisión de fluorescencia en lo visible se debe a electrones y agujeros fotogenerados atrapados en los sitios de la superficie y su recombinación radiactiva asociada, mostrando que CQDs exhibieron una buena característica fluorescente que puede mejorar las propiedades ópticas [251].

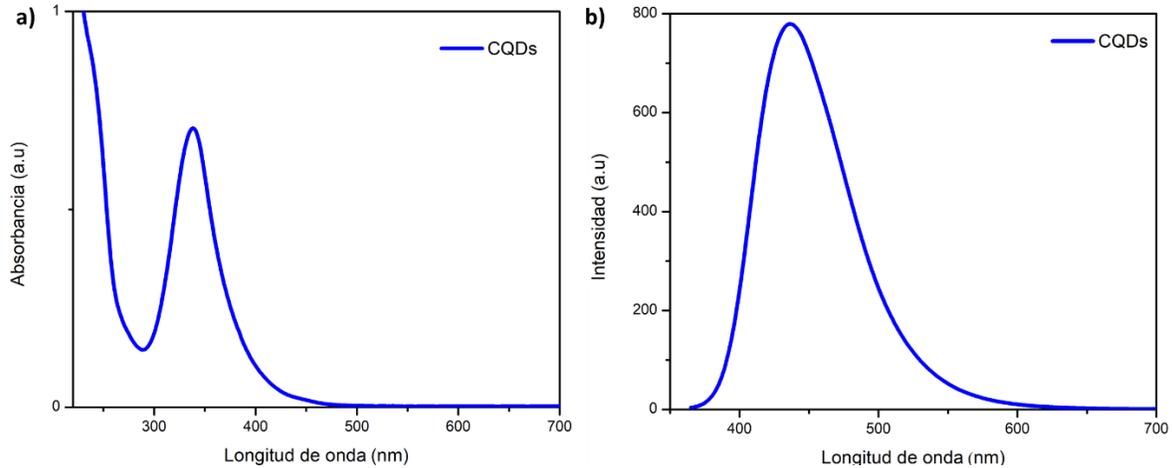


Figura 5.17. Se muestran a) el espectrograma UV-Vis de CQDs y b) espectrograma de fluorescencia de CQDs.

5.4.4. Cálculo de la banda prohibida de los óxidos metálicos

Se realizaron estudios de fotoactividad de los nanomateriales semiconductores por medio de espectrofotometría UV-Vis de estado sólido. A partir de los espectros de absorbancia se calculó la banda prohibida (E_g) de los nanomateriales semiconductores. La energía de la banda prohibida de absorción se puede calcular con la ecuación de Einstein-Planck (ecuación 5.1):

$$E = h\nu \quad (5.1)$$

donde h es la constante de Planck ($h = 6.626 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$) y ν es la frecuencia del fotón. Si se toma la relación $\nu = \frac{c}{\lambda}$, donde c es la velocidad de la luz ($c = 2.997 \times 10^8 \text{ m/s}$) y λ es la longitud de onda (nm), se puede sustituir la ecuación 5.1 por (ecuación 5.2):

$$E = \frac{hc}{\lambda} \quad (5.2)$$

Esta ecuación encuentra la energía del fotón con la correlación de su longitud de onda. A partir de una extrapolación de los datos en un gráfico de Tauc, es posible obtener el valor de la banda prohibida. La fórmula de Tauc se indica a continuación (ecuación 5.3) [195]:

$$(\alpha h\nu)^n = K (h\nu - E_g) \quad (5.3)$$

donde $h\nu$ es la energía del foton incidente, α es el coeficiente de absorción, K es la constante de energía independiente y n es la representación de la naturaleza de transición, con un valor de 2 para transición directa y $\frac{1}{2}$ para transición indirecta. Para este caso, la transición se considera directa, con $n = 2$. El valor de la banda prohibida se obtiene en unidades de [Jm], por lo que el valor de E_g obtenido se convierte en electronVolts [eV] ($J = 1.602 \times 10^{-19}$ eVm). En la Tabla 5.3 y Figura 5.18, 5.19 y 5.20 se observan los valores obtenidos para la banda prohibida de los nanomateriales semiconductores.

5.4.5. Banda prohibida de CQDs

El valor obtenido de E_g para CQDs fue de 1.57 eV (Figura 5.20), un valor menor al valor obtenido en la literatura. Esto puede deberse al tamaño, ya que mientras más grandes sean las partículas más pequeño es el valor de E_g , además de la influencia de su dopado con nitrógeno que da mayor sensibilidad a la absorción [213].

5.4.6. Banda prohibida de ZnO, Ag/ZnO y C@ZnO

El valor para ZnO, Ag/ZnO y C@ZnO correspondieron a 3.21, 3.18 y 3.13, respectivamente (Figura 5.18). Se infiere que al dopar el ZnO, el valor de E_g disminuye. Para el caso de Ag/ZnO, los iones Zn^{+2} de la red de ZnO fueron remplazados por iones Ag^+ , esto debido a la resonancia de plasmón de superficie local [252]. En el caso de C@ZnO, la disminución se debe a la unión de CQDs a ZnO, donde CQDs se comporta como un donador de electrones, además, se da el caso de que CQDs pueda acumular electrones mediante la supresión de la recombinación de huecos de electrones (h^+), así, la fotoenergía de que acumuló CQDs se transfiere a ZnO [253].

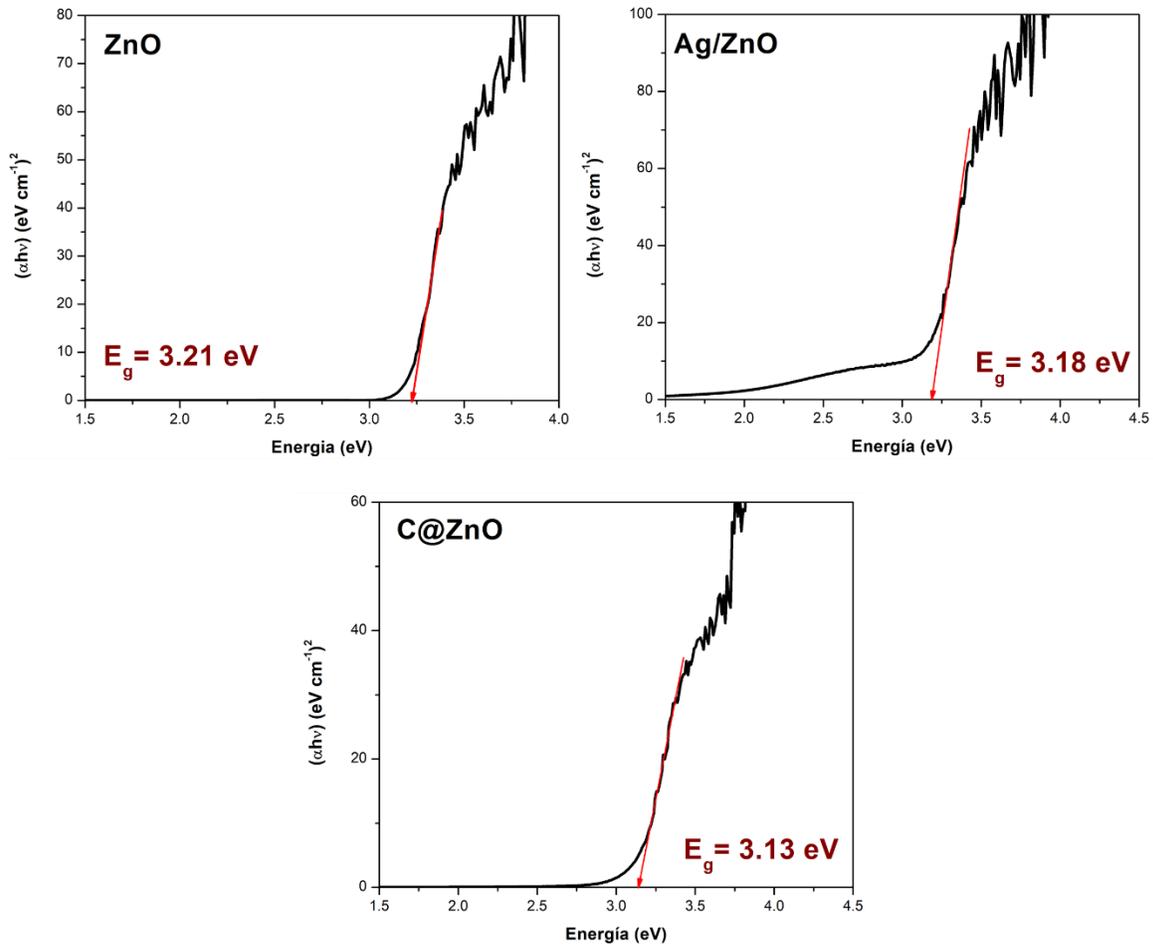


Figura 5.18. Gráficos de Tauc para el cálculo de la banda prohibida de ZnO, Ag/ZnO y C@ZnO.

5.4.7. Banda prohibida de MFe_xO_4

Para las ferritas, los valores para sus bandas prohibidas fueron: 1.84 eV para $ZnFe_2O_4$, 3.85 eV para Fe_3O_4 , 1.48 eV para $CoFe_2O_4$, 3.55 eV para $NiFe_2O_4$ (Figura 5.19). Comparando sus valores con MFe_xO_4 , resultaron ser mayores, a excepción de $ZnFe_2O_4$, donde su banda prohibida resulta en un valor menor a $C@ZnFe_2O_4$.

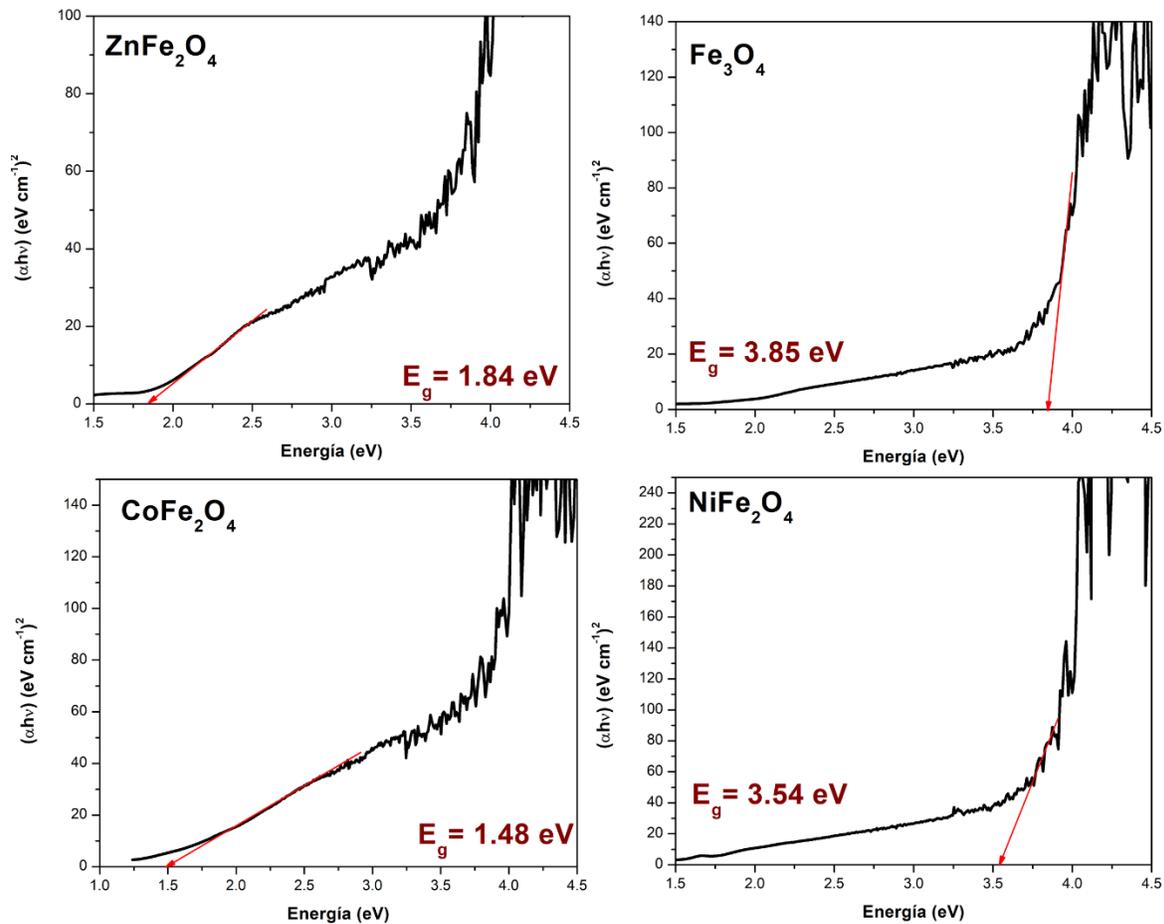


Figura 5.19. Gráficos de Tauc para el cálculo de la banda prohibida de MFe_xO_4 .

5.4.8. Banda prohibida de $C@MFe_xO_4$

Para las ferritas dopadas con CQDs, los valores para sus bandas prohibidas fueron: 3.84 eV para $C@ZnFe_2O_4$, 3.78 eV para $C@Fe_3O_4$, 1.29 eV para $C@ZnFe_2O_4$ y 1.6 eV para $C@NiFe_2O_4$ (Figura 5.20). El efecto causado por los CQDs en las ferritas es similar al caso de $C@ZnO$, donde los CQDs son donadores de electrones para las ferritas, en este caso, dadas sus estructuras espinelas, a excepción de $C@ZnFe_2O_4$, donde el valor de E_g se ve incrementado, se requiere mayor energía para superar la banda de valencia para alcanzar la banda de conducción. Esto puede deberse a injerencia en el instrumento a la hora de hacer la lectura del material.

En general, E_g es más grande cuando el tamaño de grano de un semiconductor es más chico o puede deberse al intercambio de electrones entre los CQDs y más los electrones de las ferritas espinelas [254].

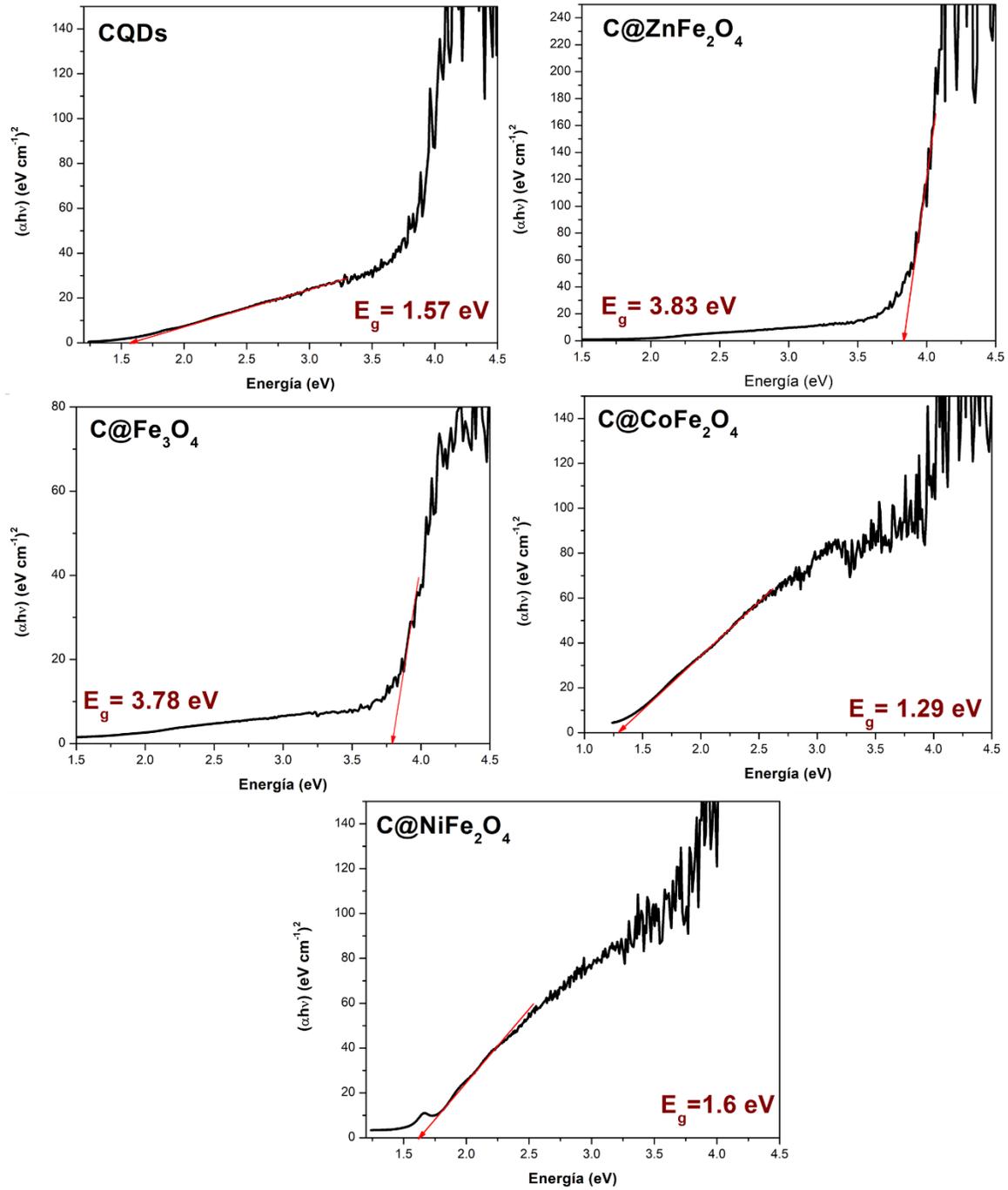


Figura 5.20. Gráficos de Tauc para el cálculo de la banda prohibida de CQDs y C@MFe_xO₄.

Tabla 5.3. Valor de la banda prohibida óptica calculado a partir de la relación de Tauc.

MONPs	E_g (eV) Relación de Tauc	E_g (eV) Referencia	Ref.
CQDs	1.57	~2.40–1.90	[213]
ZnO	3.21		
Ag/ZnO	3.18	~3.37	[255]
C@ZnO	3.13		
ZnFe ₂ O ₄	1.84		
C@ZnFe ₂ O ₄	3.83	~1.90	[256]
Fe ₃ O ₄	3.85		
C@Fe ₃ O ₄	3.78	~3.49	[257]
CoFe ₂ O ₄	1.48		
C@CoFe ₂ O ₄	1.29	1.17–1.34	[186]
NiFe ₂ O ₄	3.55		
C@NiFe ₂ O ₄	1.60	2.19	[254]

5.5. Ensayos antibacterianos

Teniendo en cuenta las caracterizaciones hechas previamente a los nanomateriales sintetizados, se evaluaron las propiedades antibacterianas para ZnO, Ag/ZnO, C@ZnO, Fe₃O₄, C@Fe₃O₄, ZnFe₂O₄, C@ZnFe₂O₄, CoFe₂O₄, C@CoFe₂O₄, NiFe₂O₄, C@NiFe₂O₄, CQDs y Ag frente a diferentes patógenos Gram positivos (*Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*) y Gram negativos (*E. coli* y *Salmonella typhi*) (Figura 5.21, Tabla 5.4 y Tabla 5.5)

5.5.1. Zonas de inhibición

Utilizando el método antibiograma de discos se probaron de forma cualitativa la actividad antibacteriana de ZnO, Ag/ZnO, C@ZnO, Fe₃O₄, C@Fe₃O₄, ZnFe₂O₄, C@ZnFe₂O₄, CoFe₂O₄, C@CoFe₂O₄, NiFe₂O₄, C@NiFe₂O₄, CQDs y Ag. Se utilizaron cajas Petri de vidrio de 90 mm, donde se vertió agar nutritivo Müller-Hilton, se sembraron entonces las bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. cereus*) y Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*). Posteriormente se colocaron discos de papel filtro Whatman de 6 mm de diámetro impregnados con las diferentes nanopartículas en concentraciones diferentes (50, 100, 200 y 400 μ L). Para

MFe_xO₄ y ZnO, se expusieron a la luz visible durante 24 h para activar las propiedades fotocatalíticas. Los resultados de la inhibición se muestran en la Tabla 5.3, así como en la Figura 5.21. Las Ag NPs (107 mg/mL) presentaron una naturaleza antibacteriana, por lo que sirvió de control para comprobar la eficiencia antibacteriana. Las Ag NPs mostraron halos de inhibición en promedio mayores al resto de las nanopartículas usadas, teniendo mayor inhibición de a mayor concentración. En promedio, Ag NPs tiene un mayor efecto antimicrobiano en *B. cereus* seguido de *S. typhi* y *S. aureus*, que presentaron un halo de inhibición similar, y finalmente *E. coli*. No se presentó un patrón de inhibición con relación al tipo de pared celular. Para CQDs, se presentó inhibición bacteriana afectando en menor proporción a *S. typhi*, seguido de *E. coli*; para *S. aureus* y *B. cereus*, se presentó una mayor inhibición, siendo estas muy similares, por lo tanto, se puede apreciar un patrón de comportamiento antibacteriano debido al daño causado a la membrana celular, siendo así, que causa mayor daño a las bacterias de tipo Gram (+). En comparación con Ag NPs, en general, presenta una menor inhibición.

Las ZnO NPs (50 mg/mL) presentaron propiedades antibacterianas, al mostrar halos de inhibición y en comparación con Ag NPs, el diámetro de inhibición fue menor. El comportamiento para las bacterias, en promedio, muestra un mayor halo de inhibición para *B. cereus*, seguido de *S. typhi*, *S. aureus*, teniendo estas dos bacterias, un compartimento parecido y, finalmente *E. coli*. Para Ag/ZnO NPs (50 mg/mL), se presentaron halos de inhibición para las cuatro bacterias, siendo estas mayores que ZnO NPs para *E. coli* y para *S. typhi*, pero menores que Ag NPs, sin embargo, para *S. aureus* y para *B. cereus*, los diámetros de los halos de inhibición resultaron ser menores que ZnO NPs, siendo así, que para las bacterias Gram-negativa, se presenta un mayor daño a la membrana celular. Para apreciar mejor el efecto antibacteriano de ZnO se hizo la comparativa con el material dopado con Ag y CQDs. Las C@ZnO NPs (50 mg/mL) presentaron halos de inhibición para las cuatro bacterias, siendo su comportamiento antibacteriano mayor para *B. cereus*, mientras que para *S. aureus*, *E. coli* y *S. typhi* su comportamiento fue muy similar. En comparación en ZnO NPs, su comportamiento antibacteriano se resultó ser menos efectivo para *B. cereus*, pero mayor que Ag/ZnO NPs; para las demás bacterias, su comportamiento antibacteriano resultó superior a ZnO NPs; en comparación con Ag NPs, C@ZnO NPs resultó eficiente solo para *E. coli*.

Para C@ZnO NPs con CQDs, el comportamiento de inhibición para *S. aureus*, es similar, sin embargo, CQDs tiene mejores resultados que C@ZnO NPs; en el caso de *B. cereus*, C@ZnO NPs presenta mayor efecto antibacteriano, sin embargo, son similares; para *E. coli* y *S. typhi*, C@ZnO NPs es mejor como material antibacteriano, donde se aprecia un diámetro mayor de inhibición en comparación con CQDs. Para ZnFe₂O₄ las propiedades antibacterianas resultaron ser bajas, en promedio, presenta poca inhibición, siendo *S. typhi* la bacteria más afectada por el nanomaterial, seguida por *B. cereus*, después por *S. aureus* y al final por *E. coli*, sin embargo, apenas hay diferencia entre los diámetros de los halos de inhibición, esto no permite distinguir el daño por tipo de pared celular (Gram (+) o Gram (-)). Comparando ZnFe₂O₄ con ZnO, ZnO NPs presenta mejores propiedades antibacterianas. Para C@ZnFe₂O₄, los halos de inhibición que se midieron, resultaron en mayor diámetro para *S. aureus*, seguido de *B. cereus*, en tanto, para *E. coli* y *S. typhi*, los diámetros resultaron ser parecidos, pero menores a *S. aureus* y *B. cereus*. Comparando C@ZnFe₂O₄ con ZnFe₂O₄, resultó haber mejores efectos antibacterianos al dopar a ZnFe₂O₄, ya que los diámetros de inhibición en C@ZnFe₂O₄ son mayores, pero en comparación con CQDs, sus efectos en todas las bacterias resultaron ser menores, excepto para *E. coli*, donde se ve una mejora en la inhibición; del mismo modo al compararlo con ZnO NPs, C@ZnFe₂O₄ presenta efectos menos dañinos a las bacterias. Para apreciar mejor el efecto antibacteriano de ZnFe₂O₄ y C@ZnFe₂O₄, se hizo la comparativa con demás ferritas a partir de otros metales M (M= Fe, Co y Ni). Para Fe₃O₄, no se observan propiedades antibacterianas relevantes, siendo que, para el diámetro de 6 mm, la inhibición que presenta no supera los 6.4 mm, y para las cuatro bacterias usadas (*S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* y *S. typhi*) se mantienen en una proporción muy similar.

Para C@Fe₃O₄, las propiedades antibacterianas se presentan en mayor inhibición para *E. coli*, seguida de *S. typhi*, le sigue *S. aureus* y en *B. cereus* no hay inhibición. Se aprecia el patrón de inhibición con relación al daño provocado a la membrana celular, siendo así, hay mayor daño en las bacterias Gram-positiva que en las bacterias Gram-negativa. En comparación con Fe₃O₄, los efectos antibacterianos aumentan del mismo modo que con ZnFe₂O₄ al doparlas con CQDs, por otro lado, al compararlas con CQDs, C@Fe₃O₄ tiene menor efecto antibacteriano. Para C@CoFe₂O₄, los halos de inhibición que se midieron, mostraron efectos antibacterianos, habiendo una mayor inhibición en para *S. typhi* y *S. aureus* que resultaron

tener diámetros similares, por otra parte, *S. aureus* presentó menor inhibición que *S. typhi* y *S. aureus*, por último, *E. coli* mostró menos inhibición a diferencia de las demás bacterias. Comparándola con ZnFe_2O_4 , CoFe_2O_4 mostró mayores propiedades antibacterianas a excepción de *S. aureus*, donde la inhibición fue similar. Para $\text{C@CoFe}_2\text{O}_4$, las propiedades antibacterianas, *S. aureus* y en *B. cereus* presentaron mayor inhibición, siendo estas muy similares, seguida de *S. typhi* y, por último, la bacteria que presentó menor inhibición fue *E. coli*. Comparándola con CoFe_2O_4 , $\text{C@CoFe}_2\text{O}_4$ presentó mayor inhibición para *S. aureus*, *B. cereus* y *E. coli*, pero, para *S. typhi*, su inhibición disminuyó. Comparando $\text{C@CoFe}_2\text{O}_4$ con $\text{C@ZnFe}_2\text{O}_4$, esta presentó mayor inhibición. En el caso de comparar $\text{C@CoFe}_2\text{O}_4$ con CQDs, $\text{C@CoFe}_2\text{O}_4$ presentó mayor inhibición para la bacteria *E. coli*, sin embargo, para las demás bacterias, su halo de inhibición, resultó ser más baja que para CQDs. Para NiFe_2O_4 , los halos de inhibición mostraron que hubo mayor daño para la bacteria *S. typhi*, seguida de *S. aureus*, *B. cereus* y finalmente *E. coli*, no se muestra un patrón que infiera en el daño con relación a su membrana celular, ya que para *S. aureus*, *B. cereus* y *E. coli* el daño es similar, tomando de referencia el diámetro del halo de inhibición. Si se compara con ZnFe_2O_4 , NiFe_2O_4 tiene un comportamiento similar. Para $\text{C@NiFe}_2\text{O}_4$, se observó que hay mayor inhibición para la bacteria *B. cereus*, seguida de *E. coli*, por otro lado, *S. aureus* y *S. typhi* mostraron menor diámetro de inhibición, además de un comportamiento similar. Comparando $\text{C@NiFe}_2\text{O}_4$ con $\text{C@ZnFe}_2\text{O}_4$, $\text{C@NiFe}_2\text{O}_4$ tuvo un compartimento similar en la inhibición, sin embargo, para *B. cereus*, $\text{C@ZnFe}_2\text{O}_4$ mostró una mejor propiedad antibacteriana. Comparando $\text{C@NiFe}_2\text{O}_4$ con CQDs, $\text{C@NiFe}_2\text{O}_4$ mostró menores efectos antibacterianos.

Tabla 5.4. Comparación de pruebas antimicrobianas con la técnica de zonas de inhibición (ZOI)

Compuestos	Diámetros de la zona de inhibición (ZOI, mm)				
	Concentración (mg/mL)	Gram (+)		Gram (-)	
		<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>
Ag	0.107	9.8 ± 0.2	11.1 ± 0.3	8.2 ± 0.5	10.4 ± 0.3
CQDs	100	9.0 ± 0.4	8.8 ± 0.2	6.4 ± 0.3	7.5 ± 0.3
ZnO	50	10.1 ± 0.3	7.8 ± 0.5	7.3 ± 0.3	8.1 ± 0.5
Ag/ZnO	50	8.4 ± 0.6	7.6 ± 0.2	8.3 ± 0.4	9.3 ± 0.4
C@ZnO	50	9.3 ± 0.2	8.3 ± 0.9	8.3 ± 0.4	8.22 ± 0.2
ZnFe ₂ O ₄	50	6.7 ± 0.3	6.6 ± 0.2	6.3 ± 0.1	6.8 ± 0.1
C@ZnFe ₂ O ₄	50	6.6 ± 0.3	7.0 ± 0.2	6.6 ± 0.1	6.5 ± 0.3
CoFe ₂ O ₄	50	7.7 ± 0.4	6.6 ± 0.2	6.2 ± 0.2	7.8 ± 0.2
C@CoFe ₂ O ₄	50	7.6 ± 0.3	7.5 ± 0.3	6.8 ± 0.2	7.4 ± 0.4
Fe ₃ O ₄	50	7.6 ± 0.4	6.9 ± 0.2	6.22 ± 0.3	7.4 ± 0.2
C@Fe ₃ O ₄	50	6.1 ± 0.0	6.5 ± 0.1	7.3 ± 0.1	6.1 ± 0.1
NiFe ₂ O ₄	50	6.3 ± 0.3	6.5 ± 0.2	6.3 ± 0.2	7.0 ± 0.1
C@NiFe ₂ O ₄	50	7.5 ± 0.2	6.3 ± 0.1	6.5 ± 0.6	6.3 ± 0.1

5.5.2. Concentración mínima inhibitoria

En los estudios del diámetro de la zona de inhibición se demostró que la actividad antibacteriana dependía de la dosis, o sea, la relación de la concentración de los nanomateriales y el diámetro de inhibición. Por lo tanto, se determinó la concentración mínima inhibitoria (MIC). Para ello se utilizaron diferentes concentraciones de los nanomateriales (Tabla 5.5).

Respecto a los datos representados, se requirió de 0.2 mg/mL de Ag NPs para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. cereus*) y de 0.01 mg/mL de Ag NPs para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*). Se requirió de ~7mg/mL de ZnO NPs para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram (+) (*S.*

aureus y *B. cereus*) y de 5 mg/mL de ZnO NPs para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram-negativa (*E. coli* y *S. typhi*). Se requirió de 3.75 mg/mL de Ag/ZnO NPs para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram-positiva (*S. aureus* y *B. cereus*) y de 2.5 mg/mL de ZnO NPs para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram-negativa (*E. coli* y *S. typhi*). Se requirió de ~6 mg/mL de C@ZnO NPs para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram-positiva (*S. aureus* y *B. cereus*) y de 3.75 mg/mL de C@ZnO NPs para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram-negativa (*E. coli* y *S. typhi*). A diferencia de ZnO, C@ZnO y Ag/ZnO presentaron una mejor actividad antibacteriana, sobre todo, provocó un mayor daño a las bacterias Gram-negativa por la composición de la pared celular, donde fue más fácil acceder por parte de las NPs, y a al daño de ROS en presencia de luz visible.

Para las MF_xO_4 , los datos obtenidos fueron que se requirió de 10 y 6 mg/mL de $ZnFe_2O_4$ NPs para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. cereus*, respectivamente) y de 8 y 6 mg/mL de $ZnFe_2O_4$ NPs para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*). En el caso de C@ $ZnFe_2O_4$, se requirió de 6 y 4 mg/mL para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. cereus*, respectivamente), mientras que para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*) se requirió de 6 mg/mL. Se requirió de 12 y 8 mg/mL de $CoFe_2O_4$ NPs para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. cereus*, respectivamente) y de 10 y 12 mg/mL para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*, respectivamente).

Para C@ $CoFe_2O_4$, se requirió de 8 y 6 mg/mL para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. cereus*, respectivamente), mientras que para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*) se requirió de 8 mg/mL. Se requirió de 12 y 10 mg/mL de Fe_3O_4 NPs para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. cereus*, respectivamente) y de 10 mg/mL para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*). Para C@ Fe_3O_4 , se requirió de 10 y 8 mg/mL para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. cereus*, respectivamente), mientras que para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*) se requirió de 8 y 6 mg/mL. Se requirió de 14 mg/mL de $NiFe_2O_4$ NPs para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. cereus*) y de 12

mg/mL para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*). Se requirió de 10 y 8 mg/mL de C@NiFe₂O₄ NPs para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram positivas (*S. aureus* y *B. cereus*, respectivamente) y de 10 y 8 mg/mL para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram negativas (*E. coli* y *S. typhi*).

Tabla 5.5. Comparación de pruebas antimicrobianas con la técnica de zonas de inhibición.

Inhibidor	Concentración mínima inhibitoria (mg/mL)			
	Gram (+)		Gram (-)	
	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>
Ag	0.10	0.20	0.10	0.20
CQDs	-	-	-	-
ZnO	7.50	6.25	7.50	8.00
Ag/ZnO	3.75	3.75	5.00	7.50
C@ZnO	6.75	5.00	7.50	7.50
ZnFe ₃ O ₄	10.00	6.00	10.00	8.00
C@ZnFe ₃ O ₄	6.00	4.00	8.00	6.00
CoFe ₃ O ₄	12.00	8.00	12.00	10.0
C@CoFe ₃ O ₄	8.00	6.00	8.00	8.00
Fe ₃ O ₄	12.00	10.0	12.00	10.0
C@Fe ₂ O ₄	10.00	8.00	10.00	8.00
NiFe ₃ O ₄	12.00	12.0	14.00	14.00
C@NiFe ₃ O ₄	10.00	8.00	12.00	12.00

El crecimiento celular de estos patógenos se controló mediante el método de densidad óptica Abs500 en presencia de Ag, CQDs, ZnO, Ag/ZnO, C@ZnO, Fe₃O₄, C@Fe₃O₄, ZnFe₂O₄, C@ZnFe₂O₄, CoFe₂O₄, C@CoFe₂O₄, NiFe₂O₄, C@NiFe₂O₄, a una concentración de 2 mg/mL en caldo Müller-Hilton. Los resultados muestran que hay una disminución notable en el crecimiento celular si se introducen los nanomateriales utilizados en los medios de cultivos. Para *S. aureus* se observó una inhibición del crecimiento celular por parte de todas las NPs, siendo CQDs fue el nanomaterial con menor porcentaje de degradación, con apenas

un 10.56 % en comparación con el control, C@NiFe₂O₄ inhibió con un 21.44%, NiFe₂O₄ inhibió con un 22.56 %, C@Fe₃O₄ inhibió con un 25.76 %, Fe₃O₄ inhibió con un 26.56 %, C@CoFe₂O₄ inhibió con un 28.96 %, CoFe₂O₄ inhibió con un 30.08 %, C@ZnFe₂O₄ inhibió con un 31.2 %, ZnFe₂O₄ inhibió con un 37.6 %, C@ZnO inhibió con un 39.20 %, Ag/ZnO inhibió con un 60.32 %, finalmente, tanto ZnO como Ag NPs resultaron tener mayor inhibición, con un 100 % en comparación con el control. Los CQDs (~10 %) tuvieron un bajo porcentaje de inhibición bacteriana, en comparación con ZnO y Ag NPs que tuvieron un 100 % de inhibición bacteriana a 0.5 mg/mL de concentración, por otra parte, el comportamiento de las MFe_xO₄ fueron similares entre sí, inhibiendo de 20 a 30 %, a excepción de ZnFe₂O₄ que alcanzó ~ 38 %, sin embargo, al doparlas con CQDs (C@MFe_xO₄), sus efectos antibacterianos se ven aumentados, donde lograron inhibir de 25 a 32 %, siendo los resultados apenas notorios a diferencia del comportamiento de los nanomateriales a base de ZnO, que mostraron mejores propiedades antibacterianas que obtuvieron una inhibición de ~ 40 a 100 %. ZnFe₂O₄ presentó mejores propiedades antibacterianas a diferencia de las demás MFe_xO₄, teniendo un mejor comportamiento antibacteriano, incluso que C@ZnFe₂O₄. Por otra parte, ZnO mostró propiedades antibacterianas mejores incluso que sus dopados.

Para *B. cereus*, se observó un comportamiento antibacteriano por parte de los nanomateriales, siendo NiFe₂O₄ el nanomaterial con menor inhibición con apenas un 13 %, CoFe₂O₄ inhibió con un 21.81 %, ZnFe₂O₄ inhibió con un 23.05 %, Fe₃O₄ inhibió con un 25.93 %, C@NiFe₂O₄ inhibió con un 33.33 %, C@CoFe₂O₄ inhibió con un 46.09 %, Ag/ZnO inhibió con un 53.50 %, C@Fe₃O₄ inhibió con un 67.90 %, CQDs inhibió con un 74.49 %, ZnO inhibió con un 76.95 %, C@ZnO inhibió con un 77.78 % y Ag inhibió con un 94.24 %. A diferencia de *S. aureus*, para *B. cereus* se observó un menor porcentaje de inhibición por parte de las MFe_xO₄ que presentaron inhibición de 14 a 20 %, en cuanto a C@MFe_xO₄, se vieron aumentadas sus propiedades antibacterianas ya que la inhibición se presentó de ~ 30 a 70 %, CQDs mostró mayores efectos antibacterianos teniendo resultados muy similares a ZnO (~ 75 %), así, ZnO y sus dopados muestran también mejor efecto antibacteriano a diferencia de las ferritas, siendo su rango de inhibición de ~ 75 a 78 % y finalmente plata, que mostró mejores propiedades antibacterianas (~ 94 %). ZnFe₂O₄ mostró un comportamiento similar a CoFe₂O₄ y Fe₃O₄. En el caso de C@ZnFe₂O₄, su comportamiento

es similar a C@CoFe₂O₄ y mayor al resto de MFe_xO₄, pero mostró menor inhibición en comparación con ZnO y sus dopados, siendo estos similares en cuanto a su comportamiento antibacteriano.

Para la bacteria *E. coli*, el nanomaterial con menor porcentaje de inhibición fue CQDs con un 3 %, Fe₃O₄ inhibió con un 10.59 %, NiFe₂O₄ inhibió con un 15.68 %, CoFe₂O₄ inhibió con un 18.86 %, ZnFe₂O₄ inhibió con un 21.40 %, C@NiFe₂O₄ inhibió con un 25.85 %, C@Fe₃O₄ inhibió con un 38.98 %, C@ZnFe₂O₄ inhibió con un 41.10 %, C@CoFe₂O₄ inhibió con un 41.42 %, ZnO inhibió con un 58.26 %, Ag inhibió con un 63.88 %, C@ZnO inhibió con un 75.53 % y finalmente Ag/ZnO inhibió con un 98.83 %. CQDs para el caso de *E. coli*, presenta la menor inhibición (~ 3%). Para el caso de MFe_xO₄, la inhibición se presenta de 10 a 22 %. Con C@MFe_xO₄, sus propiedades antibacterianas se vieron mejoradas, ya que mostraron una inhibición de 25 a 42 %, por otra parte, ZnO y sus dopados mostraron inhibición de ~ 58 a 99 %, siendo Ag/ZnO el nanomaterial con mejor propiedad antibacteriana. ZnFe₂O₄ demostró tener mayor inhibición que las demás MFe_xO₄, para el caso de C@ZnFe₂O₄, sus propiedades antibacterianas se ven mejoradas a diferencia de ZnFe₂O₄ y las demás C@MFe_xO₄ (C@NiFe₂O₄ y C@Fe₃O₄), sin embargo, sus efectos son comparables a C@CoFe₂O₄. Para el caso de ZnO, mostró un aumento en la inhibición, en comparación con C@ZnFe₂O₄. También se observó un porcentaje de inhibición más alto en C@ZnO y Ag/ZnO. Por otro lado, Ag mostró un mayor porcentaje de inhibición en comparación con ZnO, pero menor con C@ZnO y Ag/ZnO.

Para *S. typhi*, el nanomaterial con menos inhibición fue Fe₃O₄ inhibió con un 13.90 %, NiFe₂O₄ inhibió con un 18.48 %, CoFe₂O₄ inhibió con un 27.35 %, CoFe₂O₄ inhibió con un 27.35 %, CQDs inhibió con un 31.66 %, ZnFe₂O₄ inhibió con un 32.02 %, C@CoFe₂O₄ inhibió con un 40.81 %, C@Fe₃O₄ inhibió con un 45.47 %, C@NiFe₂O₄ inhibió con un 45.65 %, C@ZnFe₂O₄ inhibió con un 54.89 %, ZnO inhibió con un 62.87%, C@ZnO inhibió con un 65.92 %, Ag inhibió con un 82.33 % y Ag/ZnO inhibió con un 95.87 %. Las MFe_xO₄ por sí solas apenas logran inhibir entre un 10 y un 30 % junto con los CQDs, al momento de dopar las MFe_xO₄ se observó un aumento en las propiedades antibacterianas siendo así que, el porcentaje de inhibición de C@MFe_xO₄ se encontró entre 40 y 55 %, para el caso de ZnO y sus dopados inhibieron entre un 60 y 96 %, en el caso de la plata por si sola inhibió en ~

83 %, sin embargo, se ve superada por Ag/ZnO que inhibió en ~ 96 %. ZnFe₂O₄ mostró mayor porcentaje de inhibición en comparación con las demás MFe_xO₄. C@ZnFe₂O₄ mostró un mayor porcentaje de inhibición en comparación en ZnFe₂O₄ y también con las demás C@MFe_xO₄. Por otro lado, ZnO mostró un mayor porcentaje de inhibición en comparación con C@ZnFe₂O₄, sin embargo, sus dopados (C@ZnO y Ag/ZnO) mostraron un mayor porcentaje de inhibición.

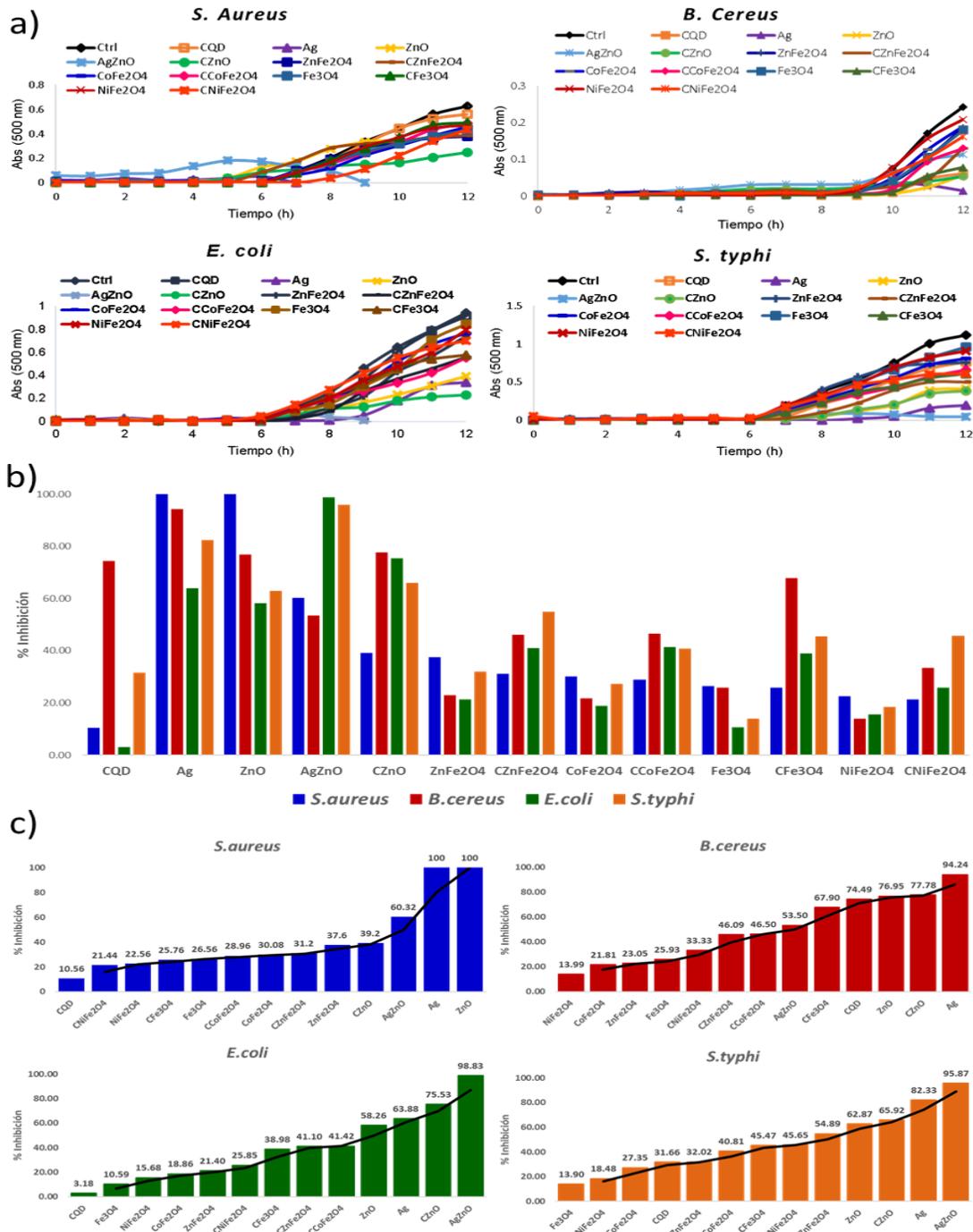


Figura 5.21. a) Parámetros antibacterianos (datos MIC) medidos por espectroscopia UV-Vis a 500 Abs. b) Porcentaje de inhibición de cada nanomaterial para las bacterias Gram-positiva (*S. aureus* y *B. cereus*) y Gram-negativa (*E. coli* y *S. typhi*). c) Porcentaje de inhibición de los nanomateriales para las bacterias en orden de eficiencia antibacteriana (de mayor a menor porcentaje).

Una de las maneras de clasificar las bacterias es con base en ciertas características en la composición de su pared celular. Partiendo de esto, las bacterias se dividen en dos categorías principales: Gram-negativas y Gram-positivas. La pared celular se encarga de proteger el interior de la bacteria ante impactos negativos que pudieran provocar factores externos (físicos, químicos y biológicos), más específicamente, se pueden mencionar tres principales funciones de la pared celular: a) el intercambio de sustancias en la célula, b) el aislamiento del contenido celular y c) el control de reacciones bioquímicas que suceden en la célula. Un componente clave en las células bacterianas es el polímero peptidoglicano. Las bacterias Gram-positiva tienen paredes celulares gruesas, esto es, que existe una región multicapa de peptidoglicano. Las bacterias Gram-negativa tienen una capa delgada de peptidoglicano que se ubica entre la célula y las membranas externas en una región llamada espacio periplásmico (característica en Gram-negativa) [19, 258].

Las nanopartículas de óxidos metálicos liberan iones de la superficie de las nanopartículas, que interactúan con grupos funcionales de macromoléculas biológicas, como lo son las proteínas presentes en la pared celular de las bacterias, también contribuyen en la generación de ROS, seguido de la peroxidación lipídica, estos efectos son los principales mecanismos antibacterianos, además, gracias a su tamaño y forma, pueden dañar físicamente la membrana celular, entrar e interrumpir funciones metabólicas, inhibiendo así, el crecimiento celular de las bacterias [259]. La inhibición causada por las nanopartículas se debió principalmente a sus propiedades fotocatalíticas que, con presencia de luz visible, se presentó una oxidación por radicales libres, o visto de una manera más apropiada, una acción de inhibición por la aparición de especies reactivas de oxígeno. (ROS). La acción inhibidora de las ZnO NPs sintetizadas a partir de compuestos biológicos (extractos de *Ocimum tenuiflorum*), en su combinación con Ag NPs sintetizadas con *Citrus sinensis* pudo deberse a la reacción de nanopartículas con proteínas bacterianas mediante la combinación de los grupos tiol (-SH) y, por lo tanto, esto conduce a la inactivación de proteínas y al crecimiento bacteriano ya que también se daña el proceso de replicación de ADN, y por lo tanto, la inhibición de las funciones enzimáticas, la luz provoca un estrés oxidativo en la pared celular bacteriana, esto además provoca la descarga de iones y la generación de ROS como el oxígeno singlete ($O\cdot$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo ($OH\cdot$) y el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), las Ag NPs en la superficie de ZnO NPs proporcionan una mayor zona de superficie reactiva para

entremezclarse con la bacteria debido a la formación de una estructura núcleo/capa, teniendo una carga positiva se atrae con la carga negativa de la membrana celular y la destruye [162, 260]. Por otro lado, la combinación de CQDs con ZnO (C@ZnO) pudo unirse a la pared celular mediante los grupos funcionales CH y COH, principalmente, obteniendo así, una mejor afinidad a las cargas, con lo que provocó la inactivación de proteínas, daño a la pared celular e interrupción de proceso como la replicación del ADN y con ello, la inactivación del crecimiento bacteriano, donde también se incluye el daño por la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) que causan, por tanto, daños en la membrana que conducen también a la muerte celular; el tamaño de CQDs, comúnmente menor a 10 nm, provoca una mayor liberación de electrones en los enlaces de valencia y conducción bajo luz ultravioleta, esto es, tras una fotoexcitación de CQDs para inducir la transferencia de carga, se producen electrones libres que van de la carga de valencia a la de conducción, dejando huecos con carga positiva, estos son estados excitados emisivos de sus recombinaciones radiactivas, este fenómeno se relaciona directamente con efectos fotodinámicos como la formación de ROS provocando destrucción sobre las macromoléculas biológicas [259, 261].

Las MFe_xO_4 son óxidos metálicos semiconductores que liberan iones de la superficie de las nanopartículas que, al interactuar con grupos funcionales de macromoléculas biológicas, producen ROS. Al dopar las MFe_xO_4 con CQDs (C@ MFe_xO_4 ; M=Fe, Co, Ni, Zn) se observó un incremento en la acción inhibitoria. En general, las MFe_xO_4 y C@ MFe_xO_4 muestra una mejor actividad antibacteriana contra las bacterias Gram-positiva, lo que puede deberse a la composición de su pared celular que contiene compuestos de peptidoglicano y ácido teicoico con abundantes poros en lo que las nanopartículas pueden penetrar fácilmente. El daño hecho a las bacterias Gram-negativa se vio en menor cantidad por parte de las MFe_xO_4 y C@ MFe_xO_4 esto, siguiendo el principio de daño provocado a las bacterias Gram-positiva, las bacterias de tipo Gram-negativa se componen de paredes celulares por lipopolisacáridos, lipoproteínas y fosfolípidos, que forman una barrera de penetración que permite el acceso de macromoléculas, haciendo que el mecanismo antibacteriano se lleve a cabo por la adherencia de cargas entre las nanopartículas y las paredes celulares, la liberación de iones y con la producción de ROS bajo irradiación de luz [174, 259].

5.6. Análisis de criterio económico

El cálculo para el costo de los reactivos para la obtención de los nanomateriales antibacterianos (CNMs) y el costo de la energía eléctrica (CEE) empleada para la elaboración de los mismos, se realizó considerando las cantidades de los reactivos utilizados en cada síntesis, así como su costo total por gramo obtenido. Además, el costo de producción se consideró de acuerdo a los precios que se otorgan a instituciones educativas, ya que este análisis considera la producción de nanomateriales antibacterianos a escala laboratorio. En la tabla 5.6 se desglosa el análisis económico de los reactivos de la síntesis de los nanomateriales (CNMs). En la columna “presentación” se muestran las unidades de medida correspondientes a gramos o mililitros. La columna “precio” indica el precio de los reactivos cotizados de la página de Sigma Aldrich. La columna “material requerido” muestra la cantidad necesaria que se utilizó para la síntesis de los distintos nanomateriales. La columna “costo por síntesis” multiplica el precio por unidad (ecuación 5.4) por el material utilizado para la síntesis (ecuación 5.5). En la última columna se obtuvo el precio por gramos de los nanomateriales (ecuación 5.6) obtenidos al final de cada síntesis para calcular el costo final de los reactivos.

$$\text{Precio} / \text{Presentación} = \text{Precio por unidad} \quad (5.4)$$

$$\text{Precio por unidad} * \text{Material utilizado} = \text{Costo reactivos por síntesis} \quad (5.5)$$

$$\text{Costos reactivos por síntesis} / \text{gramos obtenidos} = \text{Costo reactivos por gramo} \quad (5.6)$$

El cálculo del consumo de energía eléctrica de los equipos utilizados para la síntesis de los nanomateriales (CEE) se llevó a cabo considerando la preparación de los mismos a escala laboratorio en una institución educativa, por lo que la tarifa de Comisión Federal de Electricidad aplicada corresponde a la tarifa H-M, con demanda de 100 kW o más en horario para servicio general en media tensión. El costo de kW para este análisis fue el de la región central en una hora intermedia para febrero de 2021. En la Tabla 5.7 se muestran los equipos de laboratorio utilizados y su función para la síntesis de los diferentes nanomateriales. Se muestran las columnas de “potencia”, “tiempo de operación (horas)”, “consumo (kWh)”, “costo de energía (por síntesis)” y “costo de energía (por gramo)”. La columna “potencia” contiene las especificaciones eléctricas en watts de los equipos usados. La columna “tiempo de operación” contiene el tiempo requerido (en horas) para cada proceso. En la columna de

“consumo” se llevó a cabo un cálculo con la ecuación 5.7, donde se multiplicó la potencia por el tiempo de operación y se dividió entre 1000 para obtener el consumo en kilowatts-hora. En la columna de “costo de energía (por síntesis)” se consideraron los valores de Precio kWh y de consumo (ecuación 5.8). En la columna final “costo de energía (por gramo)” se calculó la cantidad de energía utilizada para obtener un gramo de nanomaterial (ecuación 5.9).

$$(\text{Potencia} * \text{Tiempo de operación}) / 1000 = \text{Consumo} \quad (5.7)$$

$$\text{Precio kWh} * \text{Consumo} = \text{Costo energía por síntesis} \quad (5.8)$$

$$\text{Costo energía por síntesis} / \text{gramos obtenidos} = \text{Costo energía por gramo} \quad (5.9)$$

El costo total para la síntesis por gramo de nanomaterial antibacteriano fue de \$476.55, \$76.99, \$110.95, \$98.43, \$101.50, \$463.26, \$354.67, \$466.71, \$358.12, \$463.28, \$354.69, \$530.71 y \$422.12 para Ag, ZnO, CQDs, Ag/ZnO, C@ZnO, Fe₃O₄, C@Fe₃O₄, ZnFe₂O₄, C@ZnFe₂O₄, CoFe₂O₄, C@CoFe₂O₄, NiFe₂O₄ y C@NiFe₂O₄ respectivamente. Estos costos son aproximados, además de que, se pueden reducir los costos por horas de uso al optimizar los métodos de síntesis y sintetizar los nanomateriales a mayor escala.

Las emisiones de CO₂ generadas durante la síntesis de los nanomateriales (EGI) se calcularon a través de la Calculadora de Emisiones para el Registro Nacional de Emisiones (RENE) de la SEMARNAT, en el cual se considera un factor de emisión del sistema eléctrico nacional 2020 de 0.494 tCO₂e/MWh. Siendo el CO₂ equivalente (CO₂e) un factor vinculante a la huella de carbono que, resulta del producto de una cantidad total de dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄) producida directa o indirectamente por alguna actividad multiplicada por el potencial del calentamiento global [262, 263]. Para el caso de Ag, las emisiones corresponden a 0.0005 tCO₂ para el consumo total de 0.85 kWh. Para ZnO y Ag/ZnO, las emisiones, dado el tipo de síntesis similar, corresponden a 0.0054 tCO₂ para el consumo total de 10.63 kWh. Para CQDs, las emisiones corresponden a 0.0064 tCO₂ para el consumo total de 13.48 kWh. Para C@ZnO, las emisiones corresponden a 0.012 tCO₂ para el consumo total de 24.175 kWh. Para las ferritas MFe_xO₄ y C@MFe_xO₄ (Fe₃O₄, C@Fe₃O₄, ZnFe₂O₄, C@ZnFe₂O₄, CoFe₂O₄, C@CoFe₂O₄, NiFe₂O₄ y C@NiFe₂O₄), se usó el mismo método de síntesis, por lo que el valor de emisiones es el mismo. Para MFe_xO₄, se obtuvo un valor de 0.021 tCO₂ para

el consumo total de 43.73 kWh. Para C@MFe_xO₄, se obtuvo un valor de 0.028 tCO₂ para el consumo total de 57.28 kWh.

Tabla 5.6. Costo de los reactivos utilizados en las síntesis de los diferentes nanomateriales antibacterianos.

Reactivo	Presentación		Precio (MXN)	Material Requerido		Costo por síntesis	Costo por gramo
Ag							
Nitrato de plata 98 %	25	g	2843	0.0035	g	3.07773E-05	
Agua destilada	20000	ml	150	10	ml	0.075	
Total						<u>\$0.08</u>	\$75.03
ZnO							
Nitrato de zinc 98 %	500	g	1551	1	g	3.102	
Agua destilada	20000	ml	150	10	ml	0.075	
Total						<u>\$3.18</u>	\$10.96
CQD							
Ácido cítrico 98 %	500	g	980	0.57	g	1.1172	
Etilendiamina 98 %	100	ml	983	0.1	ml	0.983	
Agua destilada	20000	ml	150	50	ml	0.375	
Total						<u>\$2.48</u>	\$9.90
Ag/ZnO							
Nitrato de plata 98 %	25	g	2843	0.0035	g	0.39802	
Nitrato de zinc 98 %	500	g	1551	1	g	3.102	
Agua destilada	20000	ml	150	10	ml	0.0750	
Total						<u>\$3.58</u>	\$85.99
CQDs@ZnO							
Oxido de zinc	1	g	6.35	0.5	g	3.175	
CQDs	50	ml	2.48	0.5	ml	0.0248	

Etanol 96 %	20000	ml	898	50	ml	2.245	
							Total
							\$5.44
							\$10.89
ZnF₂O₄							
Cloruro de hierro (III)	100	g	907	0.405	g	3.67335	
Cloruro de zinc 98%	100	g	580	0.17	g	0.986	
Etilen glicol 99%	4000	ml	4643	25	ml	29.01875	
Agua destilada	20000	ml	150	25	ml	0.1875	
							Total
							\$33.87
							\$135.46
C@ZnF₂O₄							
Ferrita de zinc	1	g	135.46	0.5	g	67.73	
CQDs	50	ml	2.48	0.5	ml	0.0248	
Etanol 96 %	20000	ml	898	50	ml	2.245	
							Total
							\$70.00
							\$140.00
Fe₃O₄							
Cloruro de hierro (III)	100	g	907	0.405	g	3.67335	
Cloruro de hierro (II) tetrahidratado 98%	250	g	1862	0.248	g	1.847104	
Etilen glicol 99%	4000	ml	4643	25	ml	29.01875	
Agua destilada	20000	ml	150	25	ml	0.1875	
							Total
							\$34.73
							\$138.91
C@Fe₃O₄							
Magnetita	1	g	138.91	0.5	g	69.455	
CQDs	50	ml	2.48	0.5	ml	0.0248	
Etanol 96 %	20000	ml	898	50	ml	2.245	
							Total
							\$71.72
							\$143.45
CoF₂O₄							
Cloruro de hierro (III)	100	g	907	0.405	g	3.67335	

Cloruro de cobalto (II) 98%	250	g	1536	0.161	g	0.989184
Etilen glicol 99%	4000	ml	4643	25	ml	29.01875
Agua destilada	20000	ml	150	25	ml	0.1875
Total						\$33.87 \$135.48
C@CoF₂O₄						
Ferrita de cobalto	1	g	135.48	0.5	g	67.74
CQDs	50	ml	2.48	0.5	ml	0.0248
Etanol 96 %	20000	ml	898	50	ml	2.245
Total						\$70.01 \$140.02
NiF₂O₄						
Cloruro de hierro (III)	100	g	907	0.405	g	3.67335
Cloruro de níquel hexahidratado 99.9%	100	g	6009	0.297	g	17.84673
Etilen glicol 99%	4000	ml	4643	25	ml	29.01875
Agua destilada	20000	ml	150	25	ml	0.1875
Total						\$50.73 \$202.91
C@NiF₂O₄						
Ferrita de níquel	1	g	202.91	0.5	g	101.455
CQDs	50	ml	2.48	0.5	ml	0.0248
Etanol 96 %	20000	ml	898	50	ml	2.245
Total						\$103.72 \$207.45

Tabla 5.7. Consumo de energía eléctrica de los equipos utilizados para la síntesis de los nanomateriales (CEE).

Equipo	Potencia (W)	Tiempo de operación (horas)	Consumo (kWh)	Costo por síntesis	Costo por gramo
Ag					

Horno (síntesis)	2640	5	13.2	24.7368	
Centrifugadora	550	0.2	0.11	0.20614	
Sonicador (dispersión)	130	0.5	0.065	0.12181	
			Total	45.30395	\$90.61
MF_xO₄ (M= Zn, Fe, Co, Ni)					
Parrilla (agitación)	850	0.2	0.17	0.31858	
Horno (síntesis)	2640	16	42.24	79.15776	
Horno (secado)	2640	0.5	1.32	2.47368	
			Total	81.95002	\$327.80
C@MF_xO₄ (M= Zn, Fe, Co, Ni)					
Parrilla (agitación)	850	0.2	0.17	0.31858	
Horno (síntesis)	2640	16	42.24	79.15776	
Horno (secado)	2640	0.5	1.32	2.47368	
Parilla (agitación)	850	0.2	0.17	0.31858	
Horno (síntesis)	2640	5	13.2	24.7368	
Centrifugadora	550	0.2	0.11	0.20614	
Sonicador (dispersión)	130	0.5	0.065	0.12181	
			Total	\$107.33	\$214.67

CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

6.1. Conclusiones

Con el método ambientalmente amigable se prepararon ZnO/Ag, CQDs y C@ZnO y también MFe_xO_4 con CQDs para formar C@ MFe_xO_4 empleando el extracto de las plantas *Citrus sinensis* y *Ocimum tenuiflorum*. Los nanomateriales se caracterizaron utilizando XRD, SEM, EDS, fotoespectroscopia de fluorescencia y ultravioleta-visible.

Las caracterizaciones físicas y químicas de los nanomateriales fueron analizados por UV-Vis y espectroscopia de fluorescencia, estos permitieron identificar las diferentes características fisicoquímicas asociadas a la morfología, estructura, distribución.

Se evaluaron las propiedades antibacterianas de Ag NPs, ZnO NPs, Ag/ZnO NPs, C@ZnO, $ZnFe_2O_4$, Fe_3O_4 , $CoFe_2O_4$, $NiFe_2O_4$, C@ $ZnFe_2O_4$, C@ Fe_3O_4 , C@ $CoFe_2O_4$ y C@ $NiFe_2O_4$ empleando *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* y *S. typhi*. En los estudios, los resultados se midieron con antibiograma de discos (ZOI), concentración mínima inhibitoria (MIC) y turbidez óptica Abs500. Esto permitió determinar la correlación entre la concentración de los nanomateriales dopados y no dopado con el tipo de bacteria (Gram (+) o Gram (-)). Además, se observó que los nanomateriales dopados tienen en general, una mejor actividad inhibitoria de los nanomateriales no dopados y los nanomateriales a base de ZnO tiene una mejor eficiencia inhibitoria que los nanomateriales a base MFe_xO_4 .

El uso de MONPs para el tratamiento de aguas residuales es una alternativa efectiva. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que la evaluación realizada para los nanomateriales con propiedades antibacterianas se llevó a cabo a escala laboratorio. La implementación a escala industrial de este tipo de nanomateriales aún se encuentra en desarrollo, debió a los costes económicos y energéticos. De este modo, con el uso de métodos verdes, los componentes de origen biológico, principalmente residuos de plantas y vegetales se pueden aplicar para la síntesis de nanomateriales.

6.2. Perspectivas

Para complementar la información acerca de las propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales se recomienda realizar las caracterizaciones de microscopia electrónica de transmisión (TEM) y espectroscopía de infrarrojo (FTIR).

Se recomienda hacer pruebas antibacterianas en un agua sintética con las bacterias de interés, e implementar un sistema de reciclado de los nanomateriales dadas sus propiedades, tanto los óxidos de zinc como las ferritas ferromagnéticas.

Referencias

1. Pazda, M., et al., *Antibiotic resistance genes identified in wastewater treatment plant systems - A review*. Sci Total Environ, 2019. **697**: p. 134023.
2. Tacconelli, E., et al., *Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics*. World Health Organization, 2017. **27**.
3. Dhakras, P. *Nanotechnology applications in water purification and waste water treatment: a review* Nanoscience, Engineering and Technology (ICONSET). in *2011 International Conference on Date*. 2011.
4. Mudhulu, S., & Moses, V. , *Nanotechnology-As Antibacterial and Heavy Metal Removal In Waste Water Treatment-A Review*, in *AIP Conference Proceedings*. 2018, 2039(1).
5. Qu, X., P.J. Alvarez, and Q. Li, *Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment*. Water research, 2013. **47**(12): p. 3931-3946.
6. Chorawalaa, K.K. and M. Mehta, *Applications of nanotechnology in wastewater treatment*. Int J Innov Emerg Res Eng, 2015. **2**(1): p. 21-26.
7. Zarei-Baygi, A., et al., *Evaluating Antibiotic Resistance Gene Correlations with Antibiotic Exposure Conditions in Anaerobic Membrane Bioreactors*. Environmental science & technology, 2019. **53**(7): p. 3599-3609.
8. Thakkar, K.N., S.S. Mhatre, and R.Y. Parikh, *Biological synthesis of metallic nanoparticles*. Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine, 2010. **6**(2): p. 257-262.
9. Manahan, S., *Environmental chemistry*. 2017: CRC press.
10. CONAGUA, *Estadísticas del agua en México*. 2018.
11. Schweitzer, L. and J. Noblet, *Water contamination and pollution*, in *Green chemistry*. 2018, Elsevier. p. 261-290.
12. Poynton, H.C. and W.E. Robinson, *Chapter 3.7 - Contaminants of Emerging Concern, With an Emphasis on Nanomaterials and Pharmaceuticals*, in *Green Chemistry*, B. Török and T. Dransfield, Editors. 2018, Elsevier. p. 291-315.
13. Picó, Y. and D. Barceló, *Transformation products of emerging contaminants in the environment and high-resolution mass spectrometry: a new horizon*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015. **407**(21): p. 6257-6273.
14. Daughton, C.G., *Eco-directed sustainable prescribing: feasibility for reducing water contamination by drugs*. Science of the total environment, 2014. **493**: p. 392-404.
15. Jufer, H., L. Reilly, and E.-R.E. Mojica, *Antibiotics Pollution in Soil and Water: Potential Ecological and Human Health Issues*. 2019.
16. Carvalho, I.T. and L. Santos, *Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European scenario*. Environment International, 2016. **94**: p. 736-757.
17. Bielen, A., et al., *Negative environmental impacts of antibiotic-contaminated effluents from pharmaceutical industries*. Water Research, 2017. **126**: p. 79-87.
18. Liu, X., et al., *Antibiotics in the aquatic environments: A review of lakes, China*. Science of The Total Environment, 2018. **627**: p. 1195-1208.
19. Pajerski, W., et al., *Attachment efficiency of gold nanoparticles by Gram-positive and Gram-negative bacterial strains governed by surface charges*. Journal of Nanoparticle Research, 2019. **21**(8): p. 186.

20. Mai-Prochnow, A., et al., *Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma*. Scientific Reports, 2016. **6**(1): p. 38610.
21. Economou, V., et al., *Environmental Reservoirs of Antimicrobial Resistance of Foodborne Pathogens*, in *Encyclopedia of Environmental Health (Second Edition)*, J. Nriagu, Editor. 2019, Elsevier: Oxford. p. 615-626.
22. Siddiqui, S., *Resistance in Pathogenic Microorganisms*, in *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. 2019, Elsevier. p. 183-191.
23. García, J., et al., *A review of emerging organic contaminants (EOCs), antibiotic resistant bacteria (ARB), and antibiotic resistance genes (ARGs) in the environment: Increasing removal with wetlands and reducing environmental impacts*. Bioresource Technology, 2020. **307**: p. 123228.
24. Osei Sekyere, J., et al., *Antibiotic resistance of Mycobacterium tuberculosis complex in Africa: A systematic review of current reports of molecular epidemiology, mechanisms and diagnostics*. Journal of Infection, 2019. **79**(6): p. 550-571.
25. McInnes, R.S., et al., *Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the human gut microbiome*. Current Opinion in Microbiology, 2020. **53**: p. 35-43.
26. He, Y., et al., *Antibiotic resistance genes from livestock waste: occurrence, dissemination, and treatment*. npj Clean Water, 2020. **3**.
27. Sharma, V.K., et al., *A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes*. Chemosphere, 2016. **150**: p. 702-714.
28. Meredith, H.R., et al., *Collective antibiotic tolerance: mechanisms, dynamics and intervention*. Nature Chemical Biology, 2015. **11**(3): p. 182-188.
29. Voigt, A.M., et al., *Association between antibiotic residues, antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in anthropogenic wastewater – An evaluation of clinical influences*. Chemosphere, 2020. **241**: p. 125032.
30. Organization, W.H., *Antimicrobial resistance: global report on surveillance*. 2014: World Health Organization.
31. Versporten, A., et al., *Antibiotic use in eastern Europe: a cross-national database study in coordination with the WHO Regional Office for Europe*. The Lancet Infectious Diseases, 2014. **14**(5): p. 381-387.
32. Shrivastava, S.R., P.S. Shrivastava, and J. Ramasamy, *World health organization releases global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics*. Journal of Medical Society, 2018. **32**(1): p. 76.
33. Exner, M., et al., *Preliminary risk assessment from a hygienic medical perspective concerning antibiotic-resistant bacteria in water bodies, wastewater, bathing water and possible consequences for drinking water hygiene*. Hyg Med, 2018. **43**(5): p. D46-D54.
34. Döhla, M., et al., *Assessment of the Prevalence of Antibiotic-Resistant Bacteria and the Concentration of Antibiotics in EU Bathing Waters in Western Germany*. Exposure and Health, 2020. **12**(2): p. 323-334.
35. Brandt, K.K., et al., *Ecotoxicological assessment of antibiotics: A call for improved consideration of microorganisms*. Environment International, 2015. **85**: p. 189-205.

36. Bengtsson-Palme, J. and D.G.J. Larsson, *Concentrations of antibiotics predicted to select for resistant bacteria: Proposed limits for environmental regulation*. Environment International, 2016. **86**: p. 140-149.
37. Foster, T.J., *Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus. Current status and future prospects*. FEMS Microbiology Reviews, 2017. **41**(3): p. 430-449.
38. Hennekinne, J.-A., *Chapter 7 - Staphylococcus aureus as a Leading Cause of Foodborne Outbreaks Worldwide*, in *Staphylococcus aureus*, A. Fetsch, Editor. 2018, Academic Press. p. 129-146.
39. Kumari, S. and P.K. Sarkar, *Bacillus cereus hazard and control in industrial dairy processing environment*. Food Control, 2016. **69**: p. 20-29.
40. Poolman, J.T., *Escherichia coli*, in *International Encyclopedia of Public Health (Second Edition)*, S.R. Quah, Editor. 2017, Academic Press: Oxford. p. 585-593.
41. Ma, Y., et al., *Antimicrobial activity of anthocyanins and catechins against foodborne pathogens Escherichia coli and Salmonella*. Food Control, 2019. **106**: p. 106712.
42. Luby, S.P., *Bacteria: Salmonella Typhi and Salmonella Paratyphi*, in *Encyclopedia of Food Safety*, Y. Motarjemi, Editor. 2014, Academic Press: Waltham. p. 515-522.
43. Toapanta, F.R., J.S. Booth, and M.B. Szein, *Chapter 29 - Induction of Local and Systemic Immunity by Salmonella Typhi in Humans*, in *Mucosal Vaccines (Second Edition)*, H. Kiyono and D.W. Pascual, Editors. 2020, Academic Press. p. 501-513.
44. Gürtekin, E., *Experimental and numerical design of renewable-energy-supported advanced biological wastewater treatment plant*. International Journal of Environmental Science and Technology, 2019. **16**(2): p. 1183-1192.
45. Mamais, D., et al., *Wastewater treatment process impact on energy savings and greenhouse gas emissions*. Water Science and Technology, 2014. **71**(2): p. 303-308.
46. Manu, D.S. and A.K. Thalla, *Artificial intelligence models for predicting the performance of biological wastewater treatment plant in the removal of Kjeldahl Nitrogen from wastewater*. Applied Water Science, 2017. **7**(7): p. 3783-3791.
47. Garfí, M., L. Flores, and I. Ferrer, *Life Cycle Assessment of wastewater treatment systems for small communities: Activated sludge, constructed wetlands and high rate algal ponds*. Journal of Cleaner Production, 2017. **161**: p. 211-219.
48. Lüddecke, F., et al., *Removal of total and antibiotic resistant bacteria in advanced wastewater treatment by ozonation in combination with different filtering techniques*. Water Research, 2015. **69**: p. 243-251.
49. Karkman, A., et al., *Antibiotic-Resistance Genes in Waste Water*. Trends in Microbiology, 2018. **26**(3): p. 220-228.
50. Kourdali, S., et al., *Electrochemical disinfection of bacterial contamination: Effectiveness and modeling study of E. coli inactivation by electro-Fenton, electro-peroxi-coagulation and electrocoagulation*. Journal of Environmental Management, 2018. **226**: p. 106-119.
51. Delanka-Pedige, H.M.K., et al., *Bacteria and virus reduction in secondary treatment: Potential for minimizing post disinfectant demand*. Water Research, 2020. **177**: p. 115802.
52. Xu, J., et al., *Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a sewage treatment plant and its effluent-receiving river*. Chemosphere, 2015. **119**: p. 1379-1385.
53. Mao, D., et al., *Prevalence and proliferation of antibiotic resistance genes in two municipal wastewater treatment plants*. Water Research, 2015. **85**: p. 458-466.

54. Zhang, J., et al., *Profiles and drivers of antibiotic resistance genes distribution in one-stage and two-stage sludge anaerobic digestion based on microwave-H₂O₂ pretreatment*. *Bioresource technology*, 2017. **241**: p. 573-581.
55. Nejjari, F., et al., *Economic Model Predictive Control of Aeration Systems in a Full Scale Biological Wastewater Treatment Plant*, in *Computer Aided Chemical Engineering*, A. Espuña, M. Graells, and L. Puigjaner, Editors. 2017, Elsevier. p. 1579-1584.
56. Gupta, V.K. and I. Ali, *Chapter 7 - Wastewater Treatment by Biological Methods*, in *Environmental Water*, V.K. Gupta and I. Ali, Editors. 2013, Elsevier. p. 179-204.
57. Xu, H., et al., *Recent advances in anaerobic biological processes for textile printing and dyeing wastewater treatment: a mini-review*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2018. **34**(11): p. 1-9.
58. Amaral, A.L., et al., *Use of chemometric analyses to assess biological wastewater treatment plants by protozoa and metazoa monitoring*. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2018. **190**(9): p. 1-15.
59. Zhang, S., et al., *Fate of antibiotic resistant cultivable heterotrophic bacteria and antibiotic resistance genes in wastewater treatment processes*. *Chemosphere*, 2015. **135**: p. 138-145.
60. Liu, H., et al., *Seasonal variation of bacterial community in biological aerated filter for ammonia removal in drinking water treatment*. *Water Research*, 2017. **123**: p. 668-677.
61. Mei, X., et al., *A novel membrane-aerated biofilter for the enhanced treatment of nitroaniline wastewater: Nitroaniline biodegradation performance and its influencing factors*. *Bioresource Technology*, 2020. **307**: p. 123241.
62. Changotra, R., et al., *Techno-economical evaluation of coupling ionizing radiation and biological treatment process for the remediation of real pharmaceutical wastewater*. *Journal of Cleaner Production*, 2020. **242**: p. 118544.
63. Jäger, T., et al., *Reduction of Antibiotic Resistant Bacteria During Conventional and Advanced Wastewater Treatment, and the Disseminated Loads Released to the Environment*. *Frontiers in Microbiology*, 2018. **9**(2599).
64. Huang, J.-J., et al., *UV light tolerance and reactivation potential of tetracycline-resistant bacteria from secondary effluents of a wastewater treatment plant*. *Journal of Environmental Sciences*, 2016. **41**: p. 146-153.
65. Zhang, Z., et al., *Effects of UV disinfection on phenotypes and genotypes of antibiotic-resistant bacteria in secondary effluent from a municipal wastewater treatment plant*. *Water Research*, 2019. **157**: p. 546-554.
66. Zhuang, Y., et al., *Inactivation of antibiotic resistance genes in municipal wastewater by chlorination, ultraviolet, and ozonation disinfection*. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015. **22**(9): p. 7037-7044.
67. Chen, S., et al., *Induction of Escherichia coli into a VBNC state through chlorination/chloramination and differences in characteristics of the bacterium between states*. *Water Research*, 2018. **142**: p. 279-288.
68. Le Roux, J., et al., *Chloramination of wastewater effluent: Toxicity and formation of disinfection byproducts*. *Journal of Environmental Sciences*, 2017. **58**: p. 135-145.
69. Ahmed, Y., et al., *Efficient inactivation of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes by photo-Fenton process under visible LED light and neutral pH*. *Water Research*, 2020. **179**: p. 115878.

70. Inyinbor, A.A., et al., *Wastewater conservation and reuse in quality vegetable cultivation: Overview, challenges and future prospects*. Food Control, 2019. **98**: p. 489-500.
71. Pang, Y.L. and A.Z. Abdullah, *Current status of textile industry wastewater management and research progress in Malaysia: a review*. Clean–Soil, Air, Water, 2013. **41**(8): p. 751-764.
72. Ejraei, A., M.A. Aroon, and A. Ziarati Saravani, *Wastewater treatment using a hybrid system combining adsorption, photocatalytic degradation and membrane filtration processes*. Journal of Water Process Engineering, 2019. **28**: p. 45-53.
73. Zaied, B.K., et al., *A comprehensive review on contaminants removal from pharmaceutical wastewater by electrocoagulation process*. Science of The Total Environment, 2020. **726**: p. 138095.
74. Kassem, A., G.M. Ayoub, and L. Malaeb, *Antibacterial activity of chitosan nanocomposites and carbon nanotubes: A review*. Science of The Total Environment, 2019. **668**: p. 566-576.
75. Muñoz-Écija, T., B. Vargas-Quesada, and Z. Chinchilla Rodríguez, *Coping with methods for delineating emerging fields: Nanoscience and nanotechnology as a case study*. Journal of Informetrics, 2019. **13**(4): p. 100976.
76. Adams, F.C. and C. Barbante, *Nanoscience, nanotechnology and spectrometry*. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2013. **86**: p. 3-13.
77. Cai, Z., et al., *Chapter 14 - Nanomaterials With Different Dimensions for Electrocatalysis*, in *Novel Nanomaterials for Biomedical, Environmental and Energy Applications*, X. Wang and X. Chen, Editors. 2019, Elsevier. p. 435-464.
78. Nunes, D., et al., *1 - Introduction*, in *Metal Oxide Nanostructures*, D. Nunes, et al., Editors. 2019, Elsevier. p. 1-19.
79. Soltani, A.M. and H. Pouypouy, *Chapter 19 - Standardization and Regulations of Nanotechnology and Recent Government Policies Across the World on Nanomaterials*, in *Advances in Phytonanotechnology*, M. Ghorbanpour and S.H. Wani, Editors. 2019, Academic Press. p. 419-446.
80. Nguyen Tri, P., et al., *Chapter 3 - Methods for Synthesis of Hybrid Nanoparticles*, in *Noble Metal-Metal Oxide Hybrid Nanoparticles*, S. Mohapatra, T.A. Nguyen, and P. Nguyen-Tri, Editors. 2019, Woodhead Publishing. p. 51-63.
81. Bartolucci, C., et al., *Green nanomaterials fostering agrifood sustainability*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2020. **125**: p. 115840.
82. Dhand, C., et al., *Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: a comprehensive overview*. RSC Advances, 2015. **5**(127): p. 105003-105037.
83. Muzammil, W.K., et al., *Nanotechnology in Renewable Energy: Critical Reviews for Wind Energy*, in *Nanotechnology: Applications in Energy, Drug and Food*, S. Siddiquee, G.J.H. Melvin, and M.M. Rahman, Editors. 2019, Springer International Publishing: Cham. p. 49-71.
84. Razali, N.I.M., et al., *Nanomaterials in Drug Delivery System*, in *Nanotechnology: Applications in Energy, Drug and Food*, S. Siddiquee, G.J.H. Melvin, and M.M. Rahman, Editors. 2019, Springer International Publishing: Cham. p. 233-248.
85. Zaid, M.H.M., J. Saidykhan, and J. Abdullah, *Nanosensors Based Detection of Foodborne Pathogens*, in *Nanotechnology: Applications in Energy, Drug and Food*,

- S. Siddiquee, G.J.H. Melvin, and M.M. Rahman, Editors. 2019, Springer International Publishing: Cham. p. 377-422.
86. Parveen, K., V. Banse, and L. Ledwani. *Green synthesis of nanoparticles: their advantages and disadvantages*. in *AIP conference proceedings*. 2016. AIP Publishing LLC.
 87. Nasrollahzadeh, M., et al., *Chapter 5 - Green Nanotechnology*, in *Interface Science and Technology*, M. Nasrollahzadeh, et al., Editors. 2019, Elsevier. p. 145-198.
 88. Ciambelli, P., G. La Guardia, and L. Vitale, *Chapter 7 - Nanotechnology for green materials and processes*, in *Studies in Surface Science and Catalysis*, A. Basile, et al., Editors. 2019, Elsevier. p. 97-116.
 89. Khandel, P. and S.K.J.I.J.N.B. Shahi, *Microbes mediated synthesis of metal nanoparticles: current status and future prospects*. 2016. **6**(1): p. 1-24.
 90. Kuppusamy, P., et al., *Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications – An updated report*. Saudi Pharmaceutical Journal, 2016. **24**(4): p. 473-484.
 91. Singh, P., et al., *Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms*. Trends in biotechnology, 2016. **34**(7): p. 588-599.
 92. Chandra, H., et al., *Medicinal plants: Treasure trove for green synthesis of metallic nanoparticles and their biomedical applications*. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2020. **24**: p. 101518.
 93. Das, A., et al., *Nanotechnology and its applications in environmental remediation: an overview*. Vegetos, 2019. **32**(3): p. 227-237.
 94. Nasrollahzadeh, M., et al., *Chapter 3 - Biological Sources Used in Green Nanotechnology*, in *Interface Science and Technology*, M. Nasrollahzadeh, et al., Editors. 2019, Elsevier. p. 81-111.
 95. Patra, J.K. and K.-H. Baek, *Green Nanobiotechnology: Factors Affecting Synthesis and Characterization Techniques*. Journal of Nanomaterials, 2014. **2014**: p. 417305.
 96. Akhtar, M.S., et al., *Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts*. 2013. **1**(6): p. 591-602.
 97. Singh, R.P., *Potential of Biogenic Plant-Mediated Copper and Copper Oxide Nanostructured Nanoparticles and Their Utility*, in *Plant Nanobionics: Volume 2, Approaches in Nanoparticles, Biosynthesis, and Toxicity*, R. Prasad, Editor. 2019, Springer International Publishing: Cham. p. 115-176.
 98. Bibi, I., et al., *Nickel nanoparticle synthesis using Camellia Sinensis as reducing and capping agent: Growth mechanism and photo-catalytic activity evaluation*. International Journal of Biological Macromolecules, 2017. **103**: p. 783-790.
 99. Kamran, U., et al., *Biogenic synthesis, characterization and investigation of photocatalytic and antimicrobial activity of manganese nanoparticles synthesized from Cinnamomum verum bark extract*. Journal of Molecular Structure, 2019. **1179**: p. 532-539.
 100. Dutta, T., et al., *Green synthesis of antibacterial and antifungal silver nanoparticles using Citrus limetta peel extract: Experimental and theoretical studies*. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2020. **8**(4): p. 104019.
 101. Barros, C.H.N., et al., *Soda lignin from Citrus sinensis bagasse: extraction, NMR characterization and application in bio-based synthesis of silver nanoparticles*. Energy, Ecology and Environment, 2018. **3**(2): p. 87-94.

102. Umamaheswari, C., A. Lakshmanan, and N.S. Nagarajan, *Green synthesis, characterization and catalytic degradation studies of gold nanoparticles against congo red and methyl orange*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2018. **178**: p. 33-39.
103. Devatha, C., A.K. Thalla, and S.Y.J.J.o.c.p. Katte, *Green synthesis of iron nanoparticles using different leaf extracts for treatment of domestic waste water*. 2016. **139**: p. 1425-1435.
104. Lopes, C.R.B. and L.C. Courrol, *Green synthesis of silver nanoparticles with extract of Mimusops coriacea and light*. Journal of Luminescence, 2018. **199**: p. 183-187.
105. Nava, O., et al., *Evaluation of electrochemical properties of zinc oxide based semiconductor nanoparticles biosynthesized with Mentha spicata for optoelectronic applications*. Materials Letters, 2020. **275**: p. 128101.
106. Kumar, B., et al., *Fabrication of silver nanoplates using Nephelium lappaceum (Rambutan) peel: A sustainable approach*. Journal of Molecular Liquids, 2015. **211**: p. 476-480.
107. Sagar Raut, D., R.T.J.I.j.o.s. Thorat, and research, *Green Synthesis of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles Using OcimumTenuiflorum Leaves*. 2015. **4**(5): p. 1225-1228.
108. Hamelian, M., et al., *Green synthesis, antibacterial, antioxidant and cytotoxic effect of gold nanoparticles using Pistacia Atlantica extract*. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2018. **93**: p. 21-30.
109. Nazar, N., et al., *Cu nanoparticles synthesis using biological molecule of P. granatum seeds extract as reducing and capping agent: Growth mechanism and photo-catalytic activity*. International Journal of Biological Macromolecules, 2018. **106**: p. 1203-1210.
110. Dauthal, P. and M. Mukhopadhyay, *Biofabrication, characterization, and possible bio-reduction mechanism of platinum nanoparticles mediated by agro-industrial waste and their catalytic activity*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2015. **22**: p. 185-191.
111. Heydari, R. and M. Rashidipour, *Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Extract of Oak Fruit Hull (Jaft): Synthesis and In Vitro Cytotoxic Effect on MCF-7 Cells*. International Journal of Breast Cancer, 2015. **2015**: p. 846743.
112. Khatami, M., et al., *Rectangular shaped zinc oxide nanoparticles: Green synthesis by Stevia and its biomedical efficiency*. Ceramics International, 2018. **44**(13): p. 15596-15602.
113. Tahir, M.B., M. Sagir, and K. Shahzad, *Removal of acetylsalicylate and methyl-theobromine from aqueous environment using nano-photocatalyst WO3-TiO2 @g-C3N4 composite*. Journal of Hazardous Materials, 2019. **363**: p. 205-213.
114. Khalaj, M., et al., *Copper-based nanomaterials for environmental decontamination – An overview on technical and toxicological aspects*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018. **148**: p. 813-824.
115. Xu, J., et al., *A review of functionalized carbon nanotubes and graphene for heavy metal adsorption from water: Preparation, application, and mechanism*. Chemosphere, 2018. **195**: p. 351-364.
116. Ali, M., et al., *Immobilization of peroxidase on polypyrrole-cellulose-graphene oxide nanocomposite via non-covalent interactions for the degradation of Reactive Blue 4 dye*. Chemosphere, 2018. **202**: p. 198-207.

117. Peng, Y., et al., *Antibacterial photocatalytic self-cleaning poly (vinylidene fluoride) membrane for dye wastewater treatment*. 2018. **29**(1): p. 254-262.
118. Wang, L., C. Hu, and L. Shao, *The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future*. International journal of nanomedicine, 2017. **12**: p. 1227-1249.
119. Qi, L., et al., *Rare earth oxide nanoparticles promote soil microbial antibiotic resistance by selectively enriching antibiotic resistance genes*. Environmental Science: Nano, 2019. **6**(2): p. 456-466.
120. Beyth, N., et al., *Alternative antimicrobial approach: nano-antimicrobial materials*. 2015. **2015**.
121. Arakha, M., et al., *Antimicrobial activity of iron oxide nanoparticle upon modulation of nanoparticle-bacteria interface*. Scientific Reports, 2015. **5**(1): p. 14813.
122. Madhukara Naik, M., et al., *Green synthesis of zinc ferrite nanoparticles in Limonia acidissima juice: Characterization and their application as photocatalytic and antibacterial activities*. Microchemical Journal, 2019. **146**: p. 1227-1235.
123. Rossi, L.M., et al., *Magnetic nanomaterials in catalysis: advanced catalysts for magnetic separation and beyond*. Green Chemistry, 2014. **16**(6): p. 2906-2933.
124. Fang, Y., et al., *Multifunctional Magnetic-Fluorescent Nanoparticle: Fabrication, Bioimaging, and Potential Antibacterial Applications*. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2019. **5**(12): p. 6779-6793.
125. Huang, K.-S., et al., *Antimicrobial applications of water-dispersible magnetic nanoparticles in biomedicine*. 2014. **21**(29): p. 3312-3322.
126. Rodrigues, G.R., et al., *Antimicrobial magnetic nanoparticles based-therapies for controlling infectious diseases*. International Journal of Pharmaceutics, 2019. **555**: p. 356-367.
127. Sharma, R., S. Bansal, and S. Singhal, *Tailoring the photo-Fenton activity of spinel ferrites (MFe₂O₄) by incorporating different cations (M = Cu, Zn, Ni and Co) in the structure*. RSC Advances, 2015. **5**(8): p. 6006-6018.
128. Medici, S., et al., *Medical uses of silver: history, myths, and scientific evidence*. 2019. **62**(13): p. 5923-5943.
129. Bapat, R.A., et al., *An overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry*. Materials Science and Engineering: C, 2018. **91**: p. 881-898.
130. Beyene, H.D., et al., *Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review*. Sustainable Materials and Technologies, 2017. **13**: p. 18-23.
131. Ahmad, S., et al., *Green nanotechnology: a review on green synthesis of silver nanoparticles - an ecofriendly approach*. International journal of nanomedicine, 2019. **14**: p. 5087-5107.
132. Patil, M.P., et al., *Antibacterial potential of silver nanoparticles synthesized using Madhuca longifolia flower extract as a green resource*. Microbial Pathogenesis, 2018. **121**: p. 184-189.
133. Raza, M.A., et al., *Size- and Shape-Dependent Antibacterial Studies of Silver Nanoparticles Synthesized by Wet Chemical Routes*. Nanomaterials (Basel), 2016. **6**(4).
134. Ivask, A., et al., *Size-dependent toxicity of silver nanoparticles to bacteria, yeast, algae, crustaceans and mammalian cells in vitro*. PLoS One, 2014. **9**(7): p. e102108.
135. El-Zahry, M.R., et al., *Antibacterial effect of various shapes of silver nanoparticles monitored by SERS*. Talanta, 2015. **138**: p. 183-189.

136. Alshareef, A., K. Laird, and R.B.M. Cross, *Shape-dependent antibacterial activity of silver nanoparticles on Escherichia coli and Enterococcus faecium bacterium*. Applied Surface Science, 2017. **424**: p. 310-315.
137. Actis, L., et al., *Effect of silver nanoparticle geometry on methicillin susceptible and resistant Staphylococcus aureus, and osteoblast viability*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2015. **26**(7): p. 215.
138. Mu, H., et al., *Potent Antibacterial Nanoparticles against Biofilm and Intracellular Bacteria*. Scientific Reports, 2016. **6**(1): p. 18877.
139. Peretyazhko, T.S., Q. Zhang, and V.L. Colvin, *Size-controlled dissolution of silver nanoparticles at neutral and acidic pH conditions: kinetics and size changes*. Environ Sci Technol, 2014. **48**(20): p. 11954-61.
140. Roy, A., et al., *Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity*. 2019. **9**(5): p. 2673-2702.
141. Kiruba Daniel, S.C.G., et al., *Biosynthesis of Cu, ZVI, and Ag nanoparticles using Dodonaea viscosa extract for antibacterial activity against human pathogens*. Journal of Nanoparticle Research, 2012. **15**(1): p. 1319.
142. Singh, D., D. Rawat, and Isha, *Microwave-assisted synthesis of silver nanoparticles from Origanum majorana and Citrus sinensis leaf and their antibacterial activity: a green chemistry approach*. Bioresources and Bioprocessing, 2016. **3**(1): p. 14.
143. Kazlagić, A., et al., *Green synthesis of silver nanoparticles using apple extract and its antimicrobial properties*. Health and Technology, 2020. **10**(1): p. 147-150.
144. Ezealisiji, K.M., X.S. Noundou, and S.E. Ukwueze, *Green synthesis and characterization of monodispersed silver nanoparticles using root bark aqueous extract of Annona muricata Linn and their antimicrobial activity*. Applied Nanoscience, 2017. **7**(8): p. 905-911.
145. Banerjee, P., et al., *Leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles from widely available Indian plants: synthesis, characterization, antimicrobial property and toxicity analysis*. Bioresources and Bioprocessing, 2014. **1**(1): p. 3.
146. Gopinath, V., et al., *Biogenic synthesis, characterization of antibacterial silver nanoparticles and its cell cytotoxicity*. Arabian Journal of Chemistry, 2017. **10**(8): p. 1107-1117.
147. Rodrigues, A.G., et al., *Biogenic antimicrobial silver nanoparticles produced by fungi*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013. **97**(2): p. 775-782.
148. Kathiraven, T., et al., *Green synthesis of silver nanoparticles using marine algae Caulerpa racemosa and their antibacterial activity against some human pathogens*. Applied Nanoscience, 2015. **5**(4): p. 499-504.
149. Agnihotri, S., S. Mukherji, and S.J.R.A. Mukherji, *Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy*. 2014. **4**(8): p. 3974-3983.
150. Sanchez-Moreno, P., et al., *Smart Drug-Delivery Systems for Cancer Nanotherapy*. Curr Drug Targets, 2018. **19**(4): p. 339-359.
151. Nikolova, M.P. and M.S.J.B. Chavali, *Metal Oxide Nanoparticles as Biomedical Materials*. 2020. **5**(2): p. 27.
152. Pavithra, N.S., et al., *Citrus maxima (Pomelo) juice mediated eco-friendly synthesis of ZnO nanoparticles: Applications to photocatalytic, electrochemical sensor and antibacterial activities*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2017. **185**: p. 11-19.

153. Sun, Q., J. Li, and T. Le, *Zinc Oxide Nanoparticle as a Novel Class of Antifungal Agents: Current Advances and Future Perspectives*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018. **66**(43): p. 11209-11220.
154. Agarwal, H., S. Venkat Kumar, and S. Rajeshkumar, *A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles – An eco-friendly approach*. Resource-Efficient Technologies, 2017. **3**(4): p. 406-413.
155. Al-Nabulsi, A., et al., *Antimicrobial activity of chitosan coating containing ZnO nanoparticles against E. coli O157:H7 on the surface of white brined cheese*. International Journal of Food Microbiology, 2020. **334**: p. 108838.
156. Gao, Y., et al., *Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Citrus sinensis peel extract and application to strawberry preservation: A comparison study*. LWT, 2020. **126**: p. 109297.
157. Elavarasan, N., et al., *Evaluation of photocatalytic activity, antibacterial and cytotoxic effects of green synthesized ZnO nanoparticles by Sechium edule leaf extract*. Research on Chemical Intermediates, 2017. **43**(5): p. 3361-3376.
158. Pillai, A.M., et al., *Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles with antibacterial and antifungal activity*. Journal of Molecular Structure, 2020. **1211**: p. 128107.
159. Yuvakkumar, R., et al., *Novel green synthetic strategy to prepare ZnO nanocrystals using rambutan (Nephelium lappaceum L.) peel extract and its antibacterial applications*. Materials Science and Engineering: C, 2014. **41**: p. 17-27.
160. Khan, M.M., et al., *Antibacterial Studies of ZnO and Cu-Doped ZnO Nanoparticles Synthesized Using Aqueous Leaf Extract of Stachytarpheta jamaicensis*. BioNanoScience, 2020.
161. Vijayakumar, S., et al., *Laurus nobilis leaf extract mediated green synthesis of ZnO nanoparticles: Characterization and biomedical applications*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2016. **84**: p. 1213-1222.
162. Fouda, A., et al., *In-Vitro cytotoxicity, antibacterial, and UV protection properties of the biosynthesized Zinc oxide nanoparticles for medical textile applications*. Microbial Pathogenesis, 2018. **125**: p. 252-261.
163. Ishwarya, R., et al., *Facile green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Ulva lactuca seaweed extract and evaluation of their photocatalytic, antibiofilm and insecticidal activity*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2018. **178**: p. 249-258.
164. Perveen, R., et al., *Green versus sol-gel synthesis of ZnO nanoparticles and antimicrobial activity evaluation against panel of pathogens*. Journal of Materials Research and Technology, 2020. **9**(4): p. 7817-7827.
165. Maria Vinosel, V., et al., *Photocatalytic and Antibacterial Applications of Magnetic Fe₃O₄-CuO Nanocomposite*. Materials Today: Proceedings, 2019. **8**: p. 301-309.
166. Ali, A., et al., *Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles*. 2016. **9**: p. 49.
167. Dash, A., M.T. Ahmed, and R. Selvaraj, *Mesoporous magnetite nanoparticles synthesis using the Peltophorum pterocarpum pod extract, their antibacterial efficacy against pathogens and ability to remove a pollutant dye*. Journal of Molecular Structure, 2019. **1178**: p. 268-273.
168. Wang, M., Y. Ni, and A. Liu, *Fe₃O₄@Resorcinol-Formaldehyde Resin/Cu₂O Composite Microstructures: Solution-Phase Construction, Magnetic Performance*,

- and Applications in Antibacterial and Catalytic Fields*. ACS Omega, 2017. **2**(4): p. 1505-1512.
169. Padhi, D.K., et al., *Green Synthesis of Fe₃O₄/RGO Nanocomposite with Enhanced Photocatalytic Performance for Cr(VI) Reduction, Phenol Degradation, and Antibacterial Activity*. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2017. **5**(11): p. 10551-10562.
 170. Baños, J.G.C., V.E.N. Lara, and C.O.J.R.C.d.Q. Puentes, *Magnetite (Fe₃O₄): An inorganic structure with many applications for heterogeneous catalysis*. 2017. **46**(1): p. 42.
 171. Majid, A., et al., *Synthesis and characterisation of magnetic nanoparticles in medicine*, in *Micro and Nanomanufacturing Volume II*. 2018, Springer. p. 413-442.
 172. Mousavi, S.M., et al., *Green synthesis of supermagnetic Fe₃O₄-MgO nanoparticles via Nutmeg essential oil toward superior anti-bacterial and anti-fungal performance*. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2019. **54**: p. 101352.
 173. Ghaseminezhad, S.M. and S.A. Shojaosadati, *Evaluation of the antibacterial activity of Ag/Fe₃O₄ nanocomposites synthesized using starch*. Carbohydrate Polymers, 2016. **144**: p. 454-463.
 174. Bashir, M., S. Ali, and M.A. Farrukh, *Green Synthesis of Fe₂O₃ Nanoparticles from Orange Peel Extract and a Study of Its Antibacterial Activity*. Journal of the Korean Physical Society, 2020. **76**(9): p. 848-854.
 175. Salem, D.M.S.A., M.M. Ismail, and M.A. Aly-Eldeen, *Biogenic synthesis and antimicrobial potency of iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles using algae harvested from the Mediterranean Sea, Egypt*. The Egyptian Journal of Aquatic Research, 2019. **45**(3): p. 197-204.
 176. Shin, N., K. Saravanakumar, and M.-H. Wang, *Sonochemical Mediated Synthesis of Iron Oxide (Fe₃O₄ and Fe₂O₃) Nanoparticles and their Characterization, Cytotoxicity and Antibacterial Properties*. Journal of Cluster Science, 2019. **30**(3): p. 669-675.
 177. Nehra, P., et al., *Antibacterial and antifungal activity of chitosan coated iron oxide nanoparticles*. British Journal of Biomedical Science, 2018. **75**(1): p. 13-18.
 178. Liu, Y., et al., *Multifunctional Magnetic Copper Ferrite Nanoparticles as Fenton-like Reaction and Near-Infrared Photothermal Agents for Synergetic Antibacterial Therapy*. ACS Applied Materials & Interfaces, 2019. **11**(35): p. 31649-31660.
 179. Maksoud, M.I.A.A., et al., *Antibacterial, antibiofilm, and photocatalytic activities of metals-substituted spinel cobalt ferrite nanoparticles*. Microbial Pathogenesis, 2019. **127**: p. 144-158.
 180. Ishaq, K., et al., *Characterization and antibacterial activity of nickel ferrite doped α -alumina nanoparticle*. 2017. **20**(2): p. 563-569.
 181. Huang, S., et al., *Synthesis of magnetic CoFe₂O₄/g-C₃N₄ composite and its enhancement of photocatalytic ability under visible-light*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2015. **478**: p. 71-80.
 182. Raman, V., et al., *Synthesis of Co₃O₄ nanoparticles with block and sphere morphology, and investigation into the influence of morphology on biological toxicity*. Exp Ther Med, 2016. **11**(2): p. 553-560.
 183. Ahmad, F. and Y. Zhou, *Pitfalls and Challenges in Nanotoxicology: A Case of Cobalt Ferrite (CoFe₂O₄) Nanocomposites*. Chemical Research in Toxicology, 2017. **30**(2): p. 492-507.

184. Sattarahmady, N., et al., *Dextrin-coated zinc substituted cobalt-ferrite nanoparticles as an MRI contrast agent: In vitro and in vivo imaging studies*. Colloids Surf B Biointerfaces, 2015. **129**: p. 15-20.
185. Kombaiah, K., et al., *Okra extract-assisted green synthesis of CoFe₂O₄ nanoparticles and their optical, magnetic, and antimicrobial properties*. Materials Chemistry and Physics, 2018. **204**: p. 410-419.
186. Madhukara Naik, M., et al., *Green synthesis of zinc doped cobalt ferrite nanoparticles: Structural, optical, photocatalytic and antibacterial studies*. Nano-Structures & Nano-Objects, 2019. **19**: p. 100322.
187. Kooti, M., et al., *Preparation and antibacterial activity of CoFe₂O₄/SiO₂/Ag composite impregnated with streptomycin*. Chemical Engineering Journal, 2015. **259**: p. 34-42.
188. Elayakumar, K., et al., *Structural, morphological, enhanced magnetic properties and antibacterial bio-medical activity of rare earth element (REE) cerium (Ce³⁺) doped CoFe₂O₄ nanoparticles*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2019. **476**: p. 157-165.
189. Jing, L., et al., *Novel magnetic CoFe₂O₄/Ag/Ag₃VO₄ composites: Highly efficient visible light photocatalytic and antibacterial activity*. Applied Catalysis B: Environmental, 2016. **199**: p. 11-22.
190. Xu, Y., et al., *Preparation of magnetic Ag/AgCl/CoFe₂O₄ composites with high photocatalytic and antibacterial ability*. 2015. **5**(52): p. 41475-41483.
191. Naik, M.M., et al., *Effect of aluminium doping on structural, optical, photocatalytic and antibacterial activity on nickel ferrite nanoparticles by sol-gel auto-combustion method*. Journal of Materials Science: Materials in Electronics, 2018. **29**(23): p. 20395-20414.
192. Gayathri Manju, B. and P. Raji, *Biological synthesis, characterization, and antibacterial activity of nickel-doped copper ferrite nanoparticles*. Applied Physics A, 2019. **125**(5): p. 313.
193. Silva, R.C., et al., *Revised Fundamental Properties and Crystal Engineering of Spinel Ferrite Nanoparticles*, in *Emerging Research in Science and Engineering Based on Advanced Experimental and Computational Strategies*. 2020, Springer. p. 511-530.
194. Allafchian, A., et al., *Synthesis, characterization and antibacterial effect of new magnetically core-shell nanocomposites*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2015. **394**: p. 318-324.
195. Babu, L.K. and Y.V.R. Reddy, *A Novel Thermal Decomposition Approach for the Synthesis and Properties of Superparamagnetic Nanocrystalline NiFe₂O₄ and Its Antibacterial, Electrocatalytic Properties*. Journal of Superconductivity and Novel Magnetism, 2020. **33**(4): p. 1013-1021.
196. Kooti, M., P. Kharazi, and H. Motamedi, *Preparation and Antibacterial Activity of Three-component NiFe₂O₄@PANI@Ag Nanocomposite*. Journal of Materials Science & Technology, 2014. **30**(7): p. 656-660.
197. Allafchian, A., et al., *Preparation, characterization, and antibacterial activity of NiFe₂O₄/PAMA/Ag-TiO₂ nanocomposite*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2016. **404**: p. 14-20.
198. Allafchian, A.R., et al., *Synthesis and characterization of the NiFe₂O₄@TEOS-TPS@Ag nanocomposite and investigation of its antibacterial activity*. Applied Surface Science, 2016. **385**: p. 506-514.

199. Patil, S.B., et al., *Sugarcane juice mediated eco-friendly synthesis of visible light active zinc ferrite nanoparticles: Application to degradation of mixed dyes and antibacterial activities*. Materials Chemistry and Physics, 2018. **212**: p. 351-362.
200. Camacho-González, M.A., et al., *Synthesis and characterization of magnetic zinc-copper ferrites: Antibacterial activity, photodegradation study and heavy metals removal evaluation*. Materials Chemistry and Physics, 2019. **236**: p. 121808.
201. Sriramulu, M., D. Shukla, and S. Sumathi, *Aegle marmelos leaves extract mediated synthesis of zinc ferrite: Antibacterial activity and drug delivery*. Materials Research Express, 2018. **5**(11): p. 115404.
202. Surendra, B.S., et al., *Jatropha extract mediated synthesis of ZnFe₂O₄ nanopowder: Excellent performance as an electrochemical sensor, UV photocatalyst and an antibacterial activity*. Chemical Physics Letters, 2020. **739**: p. 136980.
203. Das, K.K., et al., *Enhanced photocatalytic activities of polypyrrole sensitized zinc ferrite/graphitic carbon nitride n-n heterojunction towards ciprofloxacin degradation, hydrogen evolution and antibacterial studies*. Journal of Colloid and Interface Science, 2020. **561**: p. 551-567.
204. Sharma, R.P., et al., *In-vitro antibacterial and anti-biofilm efficiencies of chitosan-encapsulated zinc ferrite nanoparticles*. Applied Physics A, 2020. **126**(10): p. 824.
205. Marković, Z.M., et al., *Antibacterial photodynamic activity of carbon quantum dots/polydimethylsiloxane nanocomposites against Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae*. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2019. **26**: p. 342-349.
206. Zuo, P., et al., *A review on syntheses, properties, characterization and bioanalytical applications of fluorescent carbon dots*. Microchimica Acta, 2016. **183**(2): p. 519-542.
207. Wang, R., et al., *Recent progress in carbon quantum dots: synthesis, properties and applications in photocatalysis*. Journal of Materials Chemistry A, 2017. **5**(8): p. 3717-3734.
208. Sharma, S., et al., *Solar light driven photocatalytic degradation of levofloxacin using TiO₂/carbon-dot nanocomposites*. New Journal of Chemistry, 2018. **42**(9): p. 7445-7456.
209. Weng, C.-I., et al., *One-step synthesis of biofunctional carbon quantum dots for bacterial labeling*. Biosensors and Bioelectronics, 2015. **68**: p. 1-6.
210. Wang, Y. and A.J.J.o.M.C.C. Hu, *Carbon quantum dots: synthesis, properties and applications*. 2014. **2**(34): p. 6921-6939.
211. Zhong, D., et al., *Employing carbon dots modified with vancomycin for assaying Gram-positive bacteria like Staphylococcus aureus*. Biosensors and Bioelectronics, 2015. **74**: p. 546-553.
212. Shahshahanipour, M., et al., *An ancient plant for the synthesis of a novel carbon dot and its applications as an antibacterial agent and probe for sensing of an anti-cancer drug*. Materials Science and Engineering: C, 2019. **98**: p. 826-833.
213. Barman, M.K. and A. Patra, *Current status and prospects on chemical structure driven photoluminescence behaviour of carbon dots*. Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews, 2018. **37**: p. 1-22.
214. Martin, J.R. and C.L. Duvall, *Chapter Nine - Oxidation State as a Bioresponsive Trigger*, in *Oxidative Stress and Biomaterials*, T. Dziubla and D.A. Butterfield, Editors. 2016, Academic Press. p. 225-250.

215. Braymer, J.J. and D.P. Giedroc, *Recent developments in copper and zinc homeostasis in bacterial pathogens*. Current Opinion in Chemical Biology, 2014. **19**: p. 59-66.
216. Meghana, S., et al., *Understanding the pathway of antibacterial activity of copper oxide nanoparticles*. 2015. **5**(16): p. 12293-12299.
217. Cotton, G.C., et al., *3.04 - Antibacterial Nanoparticles*, in *Comprehensive Nanoscience and Nanotechnology (Second Edition)*, D.L. Andrews, R.H. Lipson, and T. Nann, Editors. 2019, Academic Press: Oxford. p. 65-82.
218. Joe, A., et al., *Antimicrobial activity of ZnO nanoplates and its Ag nanocomposites: Insight into an ROS-mediated antibacterial mechanism under UV light*. Journal of Solid State Chemistry, 2018. **267**: p. 124-133.
219. Zhou, G.J., et al., *Biosynthesis of CdS nanoparticles in banana peel extract*. Journal of nanoscience and nanotechnology, 2014. **14**(6): p. 4437-4442.
220. Suresh, D., et al., *Artocarpus gomezianus aided green synthesis of ZnO nanoparticles: luminescence, photocatalytic and antioxidant properties*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2015. **141**: p. 128-134.
221. Le Ouay, B. and F. Stellacci, *Antibacterial activity of silver nanoparticles: a surface science insight*. Nano today, 2015. **10**(3): p. 339-354.
222. Sirelkhatim, A., et al., *Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism*. Nano-Micro Letters, 2015. **7**(3): p. 219-242.
223. Dhand, V., et al., *Green synthesis of silver nanoparticles using Coffea arabica seed extract and its antibacterial activity*. Materials Science and Engineering: C, 2016. **58**: p. 36-43.
224. Jiménez, A.B.P., et al., *Synergistic antibacterial activity of nanohybrid materials ZnO–Ag and ZnO–Au: synthesis, characterization, and comparative analysis of undoped and doped ZnO nanoparticles*. 2014. **68**(2): p. 288-297.
225. Wang, W., et al., *Sulfur doped carbon quantum dots loaded hollow tubular g-C₃N₄ as novel photocatalyst for destruction of Escherichia coli and tetracycline degradation under visible light*. Chemical Engineering Journal, 2019. **378**: p. 122132.
226. Roy, A.K., et al., *Preparation of biocompatible and antibacterial carbon quantum dots derived from resorcinol and formaldehyde spheres*. RSC Advances, 2015. **5**(40): p. 31677-31682.
227. Travlou, N.A., et al., *S- and N-doped carbon quantum dots: surface chemistry dependent antibacterial activity*. Carbon, 2018. **135**: p. 104-111.
228. Kefeni, K.K., T.A. Msagati, and B.B. Mamba, *Ferrite nanoparticles: synthesis, characterisation and applications in electronic device*. Materials Science and Engineering: B, 2017. **215**: p. 37-55.
229. Sundararajan, M., et al., *Visible light driven photocatalytic degradation of rhodamine B using Mg doped cobalt ferrite spinel nanoparticles synthesized by microwave combustion method*. Journal of Physics and Chemistry of Solids, 2017. **108**: p. 61-75.
230. Mandal, S., et al., *Photocatalytic and antimicrobial activities of zinc ferrite nanoparticles synthesized through soft chemical route: a magnetically recyclable catalyst for water/wastewater treatment*. Journal of environmental chemical engineering, 2016. **4**(3): p. 2706-2712.
231. Kamranifar, M., A. Allahresani, and A. Naghizadeh, *Synthesis and characterizations of a novel CoFe₂O₄@ CuS magnetic nanocomposite and investigation of its*

- efficiency for photocatalytic degradation of penicillin G antibiotic in simulated wastewater. Journal of hazardous materials, 2019. 366: p. 545-555.*
232. Bhavya, M.L., A.G.S. Chandu, and S.S. Devi, *Ocimum tenuiflorum oil, a potential insecticide against rice weevil with anti-acetylcholinesterase activity. Industrial Crops and Products, 2018. 126: p. 434-439.*
 233. Piras, A., et al., *Ocimum tenuiflorum L. and Ocimum basilicum L., two spices of Lamiaceae family with bioactive essential oils. Industrial Crops and Products, 2018. 113: p. 89-97.*
 234. Veisi, H., et al., *Green synthesis of silver nanoparticles based on oil-water interface method with essential oil of orange peel and its application as nanocatalyst for A3 coupling. Materials Science and Engineering: C, 2019. 105: p. 110031.*
 235. Geraci, A., et al., *Essential oil components of orange peels and antimicrobial activity. Natural product research, 2017. 31(6): p. 653-659.*
 236. Jibrael, R.I. and M.K. Mohammed, *Production of graphene powder by electrochemical exfoliation of graphite electrodes immersed in aqueous solution. Optik, 2016. 127(16): p. 6384-6389.*
 237. Tamilarasi, P. and P. Meena, *Green synthesis of silver nanoparticles (Ag NPs) using Gomphrena globosa (Globe amaranth) leaf extract and their characterization. Materials Today: Proceedings, 2020.*
 238. Elmersi, T.M., M.H. Elsayed, and M.F. Bakr, *Enhancing the removal of methylene blue by modified ZnO nanoparticles: kinetics and equilibrium studies. Canadian Journal of Chemistry, 2017. 95(5): p. 590-600.*
 239. McMurdie, H.F., et al., *Standard X-ray diffraction powder patterns from the JCPDS research associateship. Powder Diffraction, 1986. 1(2): p. 64-77.*
 240. Tatarchuk, T.R., et al., *Effect of cobalt substitution on structural, elastic, magnetic and optical properties of zinc ferrite nanoparticles. Journal of Alloys and Compounds, 2018. 731: p. 1256-1266.*
 241. Ren, G., et al., *A new green synthesis of porous magnetite nanoparticles from waste ferrous sulfate by solid-phase reduction reaction. Journal of Alloys and Compounds, 2017. 710: p. 875-879.*
 242. Li, Z., M.A. Gondal, and Z.H. Yamani, *Preparation of magnetic separable CoFe₂O₄/PAC composite and the adsorption of bisphenol A from aqueous solution. Journal of Saudi Chemical Society, 2014. 18(3): p. 208-213.*
 243. Kale, S., et al., *Enhancement in surface area and magnetization of CoFe₂O₄ nanoparticles for targeted drug delivery application. Vol. 1953. 2018. 030193.*
 244. Maria Lumina Sonia, M., et al., *Effect of surfactants (PVB/EDTA/CTAB) assisted sol-gel synthesis on structural, magnetic and dielectric properties of NiFe₂O₄ nanoparticles. Ceramics International, 2018. 44(18): p. 22068-22079.*
 245. Mewada, A., et al., *Green synthesis of biocompatible carbon dots using aqueous extract of Trapa bispinosa peel. Materials Science and Engineering: C, 2013. 33(5): p. 2914-2917.*
 246. Jabir, M.S., et al., *Novel of nano delivery system for Linalool loaded on gold nanoparticles conjugated with CALNN peptide for application in drug uptake and induction of cell death on breast cancer cell line. Materials Science and Engineering: C, 2019. 94: p. 949-964.*
 247. Niño-Arrieta, E., et al., *Limonene epoxidation in aqueous phase over Ti/KIT-6. 2018(88): p. 74-79.*

248. Rakmai, J., et al., *Physico-chemical characterization and evaluation of bio-efficacies of black pepper essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin*. Food Hydrocolloids, 2017. **65**: p. 157-164.
249. Singh, M. and K.S. Thakur, *A STUDY OF EMPLOYEES UNDERSTANDING REGARDING HRD IN INDUSTRIES*. 2019.
250. Sousa, I.d.L., et al., *TD-DFT Analysis of the Dissymmetry Factor in Camphor*. 2020. **31**(3): p. 613-618.
251. Ahmadian-Fard-Fini, S., D. Ghanbari, and M. Salavati-Niasari, *Photoluminescence carbon dot as a sensor for detecting of Pseudomonas aeruginosa bacteria: Hydrothermal synthesis of magnetic hollow NiFe₂O₄-carbon dots nanocomposite material*. Composites Part B: Engineering, 2019. **161**: p. 564-577.
252. Thatikayala, D., et al., *Enhanced photocatalytic and antibacterial activity of ZnO/Ag nanostructure synthesized by Tamarindus indica pulp extract*. Journal of Materials Science: Materials in Electronics, 2020. **31**(7): p. 5324-5335.
253. Efa, M.T. and T. Imae, *Effects of carbon dots on ZnO nanoparticle-based dye-sensitized solar cells*. Electrochimica Acta, 2019. **303**: p. 204-210.
254. Sudhaik, A., et al., *Magnetically recoverable graphitic carbon nitride and NiFe₂O₄ based magnetic photocatalyst for degradation of oxytetracycline antibiotic in simulated wastewater under solar light*. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2018. **6**(4): p. 3874-3883.
255. Khan, M.M., et al., *Potentials of Costus woodsonii leaf extract in producing narrow band gap ZnO nanoparticles*. Materials Science in Semiconductor Processing, 2019. **91**: p. 194-200.
256. Cai, C., et al., *Visible light-assisted heterogeneous Fenton with ZnFe₂O₄ for the degradation of Orange II in water*. Applied Catalysis B: Environmental, 2016. **182**: p. 456-468.
257. Patra, J.K. and K.-H. Baek, *Green biosynthesis of magnetic iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles using the aqueous extracts of food processing wastes under photocatalyzed condition and investigation of their antimicrobial and antioxidant activity*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2017. **173**: p. 291-300.
258. García Rojas, L.M., et al., *Why ionic liquids coated ZnO nanocomposites emerging as environmental remediates: Enhanced photo-oxidation of 4-nitroaniline and encouraged antibacterial behavior*. Journal of Molecular Liquids, 2020. **319**: p. 114107.
259. Alavi, M., E. Jabari, and E. Jabbari, *Functionalized carbon-based nanomaterials and quantum dots with antibacterial activity: a review*. Expert Review of Anti-infective Therapy, 2021. **19**(1): p. 35-44.
260. Rajith Kumar, C.R., et al., *Synthesis of Core/Shell (ZnO/Ag) Nanoparticles Using Calotropis gigantea and Their Applications in Photocatalytic and Antibacterial Studies*. Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials, 2020. **30**(9): p. 3410-3417.
261. Dong, X., et al., *Synergistic photoactivated antimicrobial effects of carbon dots combined with dye photosensitizers*. International journal of nanomedicine, 2018. **13**: p. 8025-8035.
262. Martindale, T.G., *The CO₂e of inhalational anaesthetic use in a University Hospital; suggestions for continued progressive reductions*. British Journal of Anaesthesia, 2016. **117**: p. el_13932.

263. *Glossary*, in *Thermoplastics and Thermoplastic Composites (Third Edition)*, M. Biron, Editor. 2018, William Andrew Publishing. p. 1127-1134.